IMPERIAL LIBRARY
27 OCT 1929

CAB INTERNATIONAL
MYCOLOGICAL INSTITUTE
LIBRARY

IMI \ Books / KLEY

BOOKS
KLEBAN, H

Diagnostics of fungal diseases of plants.

ДИАГНОСТИКА ГРИБНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ РАСТЕНИЙ

I. Проф. Г. КЛЕБАН
МЕТОДЫ ИСКУССТВЕННОГО ЗАРАЖЕНИЯ ГРИБАМИ
ПЕРЕВОД С НЕМЕЦКОГО А. М. Сигрианского

II. А. М. СИГРИАНСКИЙ
КУЛЬТУРА ГРИБОВ

Научно-технической секцией Государственного Ученого Совета допущено в качестве пособия для сельскохозяйственных высших учебных заведений

State Publishing Dept., Moscow & Leningrad.

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО
МОСКВА 1926 ЛЕНИНГРАД

Главлит № 58994. Гиз № 14524. Тираж 3.000 экз.

Типография Госиздата „Красный Пролетарий“. Москва, Пименовская ул., 16.

H. Klebahn. - Methods of artificial infection with fungi.

ПРОФ. Д-Р ГЕНРИХ КЛЕБАН

МЕТОДЫ ИСКУССТВЕННОГО ЗАРАЖЕНИЯ ГРИБАМИ

ВСТУПЛЕНИЕ.

Искусственное заражение является одним из важнейших вспомогательных средств при исследовании паразитических грибов и вызываемых ими болезней растений и, в некоторых случаях, также животных и человека. В общем только путем искусственного заражения можно установить, является ли гриб паразитом и возбудителем приписываемой ему болезни, и лишь при помощи культур грибка на его естественном субстрате можно вполне выяснить его развитие. Излишне напоминать, что на-ряду с этим микроскопическое исследование будет также необходимо, а чистые культуры, поскольку они возможны, будут очень ценным вспомогательным средством при исследованиях.

Как правило, сапрофитические грибы легко культивируются на искусственных средах, но они неспособны вызывать заражение и только в исключительных случаях косвенно имеют отношение к болезням растений. Но важно отметить, что обе эти категории грибов вообще не разграничены строго; в частности встречается немало паразитических грибов, которые часть своего цикла развития в природе проводят как сапрофиты. Эти грибки легко растут на искусственных средах, и при изучении их главную роль играют чистые культуры.

Digitized by the Internet Archive
in 2024

https://archive.org/details/unknown0000unse_l6w3

А. ОБЩИЕ МЕТОДЫ.

Искусственное заражение во всех случаях состоит в том, чтобы заразное начало гриба, — безразлично, идет ли дело о спорах или в некоторых случаях о деятельном или покоящемся мицелии, — перенести на предназначенный для заражения организм или, в иных случаях, ввести его внутрь и, если это будет необходимо, создать такие внешние условия, которые будут способствовать прорастанию спор и дальнейшему развитию мицелия.

Чтобы получить надлежащие споры, их следует собирать лучше всего в условиях их естественного образования. В зависимости от особенностей гриба эти споры можно использовать непосредственно (*Ustilagineae, Peridermium*), в других случаях бывает необходимо вызвать их образование и размножение, выдерживая материал в течение нескольких дней во влажной атмосфере (пикниды аскомицетов или несовершенных грибов, уредо- и эцидиоспоры ржавчинных), или же, наконец, приходится применять особые приемы, чтобы вызвать полное созревание и способность к прорастанию, как, например, у зимующих телейтоспор или тех частей растения, на которых ожидается образование сумчатых плодоношений после зимнего покоя. В иных случаях бывает достаточно небольшого количества материала, чтобы получить чистую культуру гриба и при помощи образовавшихся на ней спор произвести заражение. Из сказанного ясно, что выбор надлежащих приемов заражения и правильной подготовки гриба зависит от его биологических особенностей, а поэтому изучение цикла развития грибка должно предшествовать искусственному заражению или изучаться одновременно, так как именно искусственное заражение является важнейшим вспомогательным средством в этой области исследования. Так как отдельные группы грибов и отдельные роды и виды внутри групп проявляют себя различно, то трудно установить ка-

кие-либо общие методы работы, и в дальнейшем будет необходимо указывать для различных групп соответствующие им приемы.

При перенесении заразного начала приходится руководствоваться, с одной стороны, особенностями спор и способом их выбрасывания, а с другой — особенностями заражаемого растения. Споры, образующиеся в большом количестве в виде сухого порошка, можно переносить просто при помощи кисточки. В иных случаях споры размешивают в воде и переносят кисточкой с каплей воды на ту часть растения, которая подлежит заражению. Если капли не пристают, то споры наносят на растение-хозяина при помощи пульверизатора маленькими капельками воды. Этот прием требует некоторого обилия материала, которым производится заражение. Если и этого будет недостаточно, то иногда удается перенести крошечные капельки воды при помощи капиллярной пипетки. В некоторых случаях можно использовать способность грибов выбрасывать споры иногда с относительно большой силой (сумчатые плодоношения). В таких случаях опыт следует ставить так, чтобы выбрасываемые споры попадали на предназначенное для заражения растение. Затруднения возникают в том случае, если споры заключены в ткань и освобождаются и прорастают лишь после выветривания и разложения этой ткани. Этих указаний вполне достаточно, чтобы показать, что нельзя наметить для прививок гриба общих приемов, и каждый случай приходится рассматривать отдельно.

Что касается объекта, который подвергают заражению, — в большинстве случаев дело идет о растениях, — первым требованием является то, чтобы во время постановки опыта оно не было заражено; далее требуется, чтобы оно было в возможно удобной для работы форме, и, наконец, необходимо, чтобы после произведенной прививки оно было защищено от случайных заражений. Легче всего удовлетворить всем этим требованиям, если выращивать растения в горшках. Тогда их можно держать до, в течение и после прививки в закрытых помещениях, и, таким образом, если не совсем исключить, то во всяком случае ограничить возможность нежелательных инфекций, и бывает удобнее производить прививку и наблюдать растения во всякое время независимо от погоды и исключить всякие неблагоприятные влияния, как ветер, действие палящего солнца, дождь и т. д. Большинство растений, употребляемых для исследовательских целей, даже болотные растения, как, например, Hippuris, легко культивируются в горшках. Только во-

доросли и т. п. требуют особых приемов. Для опытов с древесными породами употребляются сеянцы и небольшие, нескольких лет, побеги, которые, обрезывая, можно сделать достаточно маленькими. Если требуется произвести зараженне более старых стволов или цветов, которые развиваются только на более старых деревьях, то приходится ставить опыты на открытом воздухе. В некоторых случаях постановка опытов на воле является неизбежной потому, что некоторые растения, например злаки, в закрытых помещениях трудно культивируются и только на открытом воздухе развивают хорошую, крепкую соломину, тогда как в вегетационных домиках поражаются мучнистой росой и вообще легко повреждаются. Само собой разумеется, что опыты на открытом воздухе никогда не дают полной уверенности в том, что не произойдет посторонних инфекций. Необходимо будет указать особые приемы, к помощи которых прибегают в отдельных случаях при культивировании тех паразитических грибов, культура которых возможна только тогда, если имеется налицо соответствующее им питающее растение.

Прежние исследователи производили опыты на срезанных листьях или побегах. Этот метод удобен для лабораторной работы. В некоторых случаях этим способом можно достичь желательных результатов, особенно если опыт идет с быстро растущими грибами и когда требуется установить лишь проникание в растение ростковой трубки гриба. Но для медленно растущих грибов или когда надо установить невосприимчивость к грибку данного растения, постановка опытов со срезанными частями растения неприменима. Кроме того жизнедеятельность срезанного листа будет иная, чем находящегося на растении, и вследствие этого результаты могут быть не точны; поэтому, поскольку это возможно, следует употреблять предпочтительно целые растения, культивируемые в горшках.

В большинстве случаев при искусственном заражении молодые органы являются наиболее подходящими для прививок. Это относится главным образом к тем случаям, когда ростковые трубки грибов проникают в питающее растение непосредственно через кутикулу или оболочку, как, например, у споридий *Uredineae*, у ростковых трубок головневых, у многих сумчатых и т. д.

В таких случаях лучше всего производить прививку в момент, когда органы развиваются или только что развились. В это время верхняя сторона листа так же годится для заражения, как и ниж-

няя. Если же ростковые трубки гриба проникают в растение через устьица, то нижняя сторона листа является наиболее подходящим местом для заражения. В этих случаях развитие листа должно настолько подвинуться, что устьица будут удобопроходимы, и листья в среднем возрасте, а то и более старые, оказываются самыми подходящими для прививок. Точно так же обстоит дело в отношении осевых частей молодых побегов, пока они покрыты эпидермой. В некоторых случаях местом для проникания ростковых трубок спор являются и другие органы. Лишь знакомство с циклом развития данного гриба путем искусственного заражения позволит в конечном счете решить, какие органы следует избрать для прививок.

По отношению к *Botrytis* в некоторых случаях лепестки цветка будут восприимчивее обыкновенных зеленых листьев; *Monilia* вишни проникает через рыльца, летучая головня пшеницы и ячменя — через завязь. Подземные органы — корни, клубни, луковицы, подземные почки (последние у ржавчинных, паразитирующих на видах Anemone и Euphorbia) — тоже могут служить для прививок. В этих случаях органы подопытных растений или должны быть изолированы для заражения, или же споры гриба смешиваются с достаточным количеством почвы, в которой растение культивируется, и дальнейший ход заражения предоставляется случаю.

Кроме спор в некоторых случаях для прививок может быть использован мицелий гриба. Иногда в сыром воздухе или в почве мицелий пораженных частей растения разрастается снаружи и захватывает соседние здоровые части. Некоторые грибы образуют отвердевшие, покоящиеся стадии мицелия (склероции), которые позднее, иногда спустя продолжительное время, вновь начинают развиваться. Чаще всего они дают начало спорам или конидиальным плодоношениям, но случается, что заражение происходит непосредственно мицелием, который развивается из склероция (например склероциальные грибы гиацинтов и тюльпанов).

Задачей исследователя при опытах искусственного заражения является создать условия, по возможности тождественные с естественными.

При болезнях древесных растений заражение удается иногда в том случае, если перенести маленькие кусочки древесины или коры с растущим в них мицелием на здоровые стволы и ветви. Наконец можно использовать мицелий из чистых культур.

Для успешного проведения опытов с искусственным заражением

на-ряду с прививкой грибков имеет важное значение обстановка и уход за подопытным растением.

В первую очередь требуется вызвать прорастание спор и проникание их ростковых трубок в растение. Для этого нужна более высокая влажность воздуха. С этой целью лучше всего покрывать зараженное растение стеклянным колоколом. При этом можно поддерживать различную степень влажности, употребляя колокол, как таковой, или же покрывая его внутри намоченной фильтровальной бумагой, или же подставляя под него деревянные шашки и таким образом обеспечивая внутри его в большей или меньшей степени циркуляцию воздуха. Равным образом соответствующей поливкой почвы под стеклянным колоколом можно влиять на влажность содержащегося в нем воздуха. Колокол оставляют до тех пор, пока не будет основания предположить, что споры проросли и ростковая трубка проникла в растение. В некоторых случаях (например *Botrytis parasitica*) бывает вполне достаточно 24 часов; иногда это длится дольше. В общем же рекомендуется оставлять колокол 4—6 дней.

В течение этого времени растения необходимо осматривать каждый день, так как некоторые из них не выносят такого длительного пребывания под колоколом, или же могут оказаться отмершие места, на которых появляются плесени. Развиваясь, они могут погубить опыт. Необходимо осматривать также еще потому, что молодые части, особенно вследствие заключения их под колокол, растут быстро, и может случиться, что они изменят свое положение в отношении к грибу, привитому к ним.

Перед тем как снять колокол, полезно бывает подставить под его края на день или на два деревянные шашки, чтобы открыть доступ воздуху к растению и постепенно приучить растение к сухому воздуху.

Между величиной колокола и растением должно быть известное соотношение. Колокола некоторой величины (самые большие, употребляемые автором, имели приблизительно 70 *см* высоты и 30 *см* ширины) очень неудобны и слишком дорого стоят.

Поэтому следует выбирать для опыта по возможности маленькие растения; древесные и кустарниковые породы соответственно обрезывают. Если это окажется невозможным, то применяют некоторые приспособления. В оранжереях, о которых речь будет впереди, автор устроил большие ящики с песком, в которые и закапывал растение в цветочных горшках так глубоко, что даже

известная часть ствола оказывалась ниже поверхности песка. Если этого бывает недостаточно, колокол можно удлинить, подставляя под него муфту из обожженной глины. Если приходится работать с еще более высокими растениями, то лучше всего устроить подмостки, через отверстия которых пропускают отдельные побеги или верхушку стебля и накрывают их колоколом (Эриксон — Ericsson и Хеннинг — Henning). Можно упомянуть еще некоторые другие приспособления. При исследованиях над злаками Эриксон (1908), автор (1898) и другие исследователи применяли колоколообразные стеклянные ящики, которые у автора были сделаны из оцинкованного железа и стекла, и в них злаки в больших цветочных горшках достигали полного развития. Отверстия для проветривания были затянуты проволочной сеткой и, чтобы помешать прониканию спор, заткнуты ватой. Дальше автор употреблял длинные, шириной около 8 *см*, стеклянные трубки, которые могли вмещать только один злак. Эти приспособления употреблялись с целью воспрепятствовать доступу спор из воздуха во время развития растения, но они также могут служить при опытах по заражению высоких растений для поддержания здесь необходимой влажности воздуха.

В то время как растение находится под стеклянным колоколом, необходимо его оберегать от солнечных лучей, чтобы воздух под колоколом вследствие согревания не становился сухим и материал, внесенный для заражения, не засыхал. Для этого достаточно повесить над колоколом полотняные занавеси, какие употребляют садовники, или просто газетную бумагу. Стеклянные колокола, поддерживая достаточную влажность воздуха, в то же время охраняют подопытные растения после их заражения от случайных инфекций спорами, попадающими из воздуха. Это обстоятельство при научном исследовании является исключительно важным, и для одного этого следует употреблять стеклянные колокола, особенно если испытываемое растение поражается многими и распространенными грибами.

После удаления колокола зараженное растение также следует охранять и от нежелательных инфекций и от вредного влияния погоды и других неблагоприятных факторов. Основываясь на этом, а также учитывая, что опыт ставится с целью учесть последствия искусственного заражения, лучше всего подопытные растения держать в закрытых помещениях, как это уже указывалось выше. Для целей искусственного заражения рекомендуется построить особую теплицу.

Теплица ботанического сада в Гамбурге имеет четыре вполне самостоятельных отделения. Каждое имеет особый водопроводный кран. Паровое отопление и различное расположение их по отношению к солнцу могут быть использованы для создания различной степени влажности и температуры. Опыты, которые требуется особо тщательно разделить, могут быть поставлены в различных отделениях. При опытах, где сильна опасность постороннего заражения, имеется возможность изолировать растения вполне. Вдоль стен на удобной для работ высоте расположены вышеупомянутые ящики с песком для закапывания в них горшков с растениями и установки колоколов. В середине каждого помещения имеется большой стол для растений, уже зараженных или предназначенных для заражения.

В передней части имеется также стол для пересадки растений и маленькая лаборатория для точных исследований.

Снаружи прилажены снимающиеся тенты, чтобы предохранить помещение от слишком сильного действия солнечных лучей.

Помещение может быть продезинфецировано парами формальдегида и аммиака при помощи соответствующих аппаратов.

Вместо стеклянных колоколов и теплиц Хаслер (Hasler, 1918) предлагает употреблять ящики из картона, кровельного толя и дерева 1—1,5 *м* величины, с одной стороны снабженные открывающимися окнами. Для высоких растений Крюше (Cruchet, 1906) подвешивает стеклянные колпаки на подставках и удлиняет их снизу парафинированной бумагой. Он применяет тоже простые маленькие вегетационные домики, сооруженные из дерева и вместо стекла затянутые промасленной бумагой.

В первую очередь остановимся на тех грибах, которые могут непосредственно проникать в живое здоровое растение и, развиваясь в нем, вызывать болезненные явления.

Такие грибы можно назвать настоящими или безусловными паразитами. Типичным примером будут ржавчинные.

В противоположность им другие грибы способны заражать только тогда, когда питающее их растение находится в состоянии особого расположения к восприятию заражения.

Паразитами поранений (Wundparasiten) называют те грибы, которые способны произвести заражение лишь при наличии поранения или отмершей ткани, но еще сохранившей связь с живой.

Здесь дело идет в первую очередь о грибах, живущих на стволах и ветвях древесных пород.

Пробковый слой, который покрывает ветви снаружи, следует рассматривать как ткань, которая по меньшей мере препятствует прониканию грибницы. Могут быть, конечно, исключения. Чечевички же только случайно могут служить для проникания гриба.

Поранения или отмершие места на растениях, которые облегчают доступ грибам, появляются в природе вследствие различных причин; они-то и должны быть использованы при искусственном заражении. В других случаях для этого наносят на коре или древесине поранение и туда вводят споры гриба, чистую культуру или кусочки живой ткани, пронизанной грибницей; или же пытаются убить части живой ткани действием холода, тепла или при помощи химических веществ и сюда наносят заразное начало гриба. После прививки растение ставят в благоприятные для развития гриба условия.

Внедрение грибка в растение не является единственным фактором, обусловливающим заражение и еще менее дальнейшее развитие гриба в пораженных частях и появление болезненных явлений.

Мюнх (Münch, 1919) в своих замечательных исследованиях над грибами, поражающими древесину, например над видами *Nectria, Valsa, Polyporus, Agaricus* и др., указывает, что большее или меньшее содержание воздуха в тканях, главным образом в древесине, является решающим фактором для более или менее глубокого проникания гриба.

Гриб требует более высокого содержания воздуха, нежели то, которым обладают ткани, пропитанные в свежем состоянии водой.

Поэтому свежая древесина иммунна и становится восприимчивой, когда под влиянием определенных внешних условий содержание воды в ней понизится. Конечно нет надобности, чтобы понижение содержания воды в клетке шло так далеко, чтобы повлекло за собой опасность для жизни клетки.

При лабораторных опытах Мюнха со срезанными кусками ветвей количество воды регулировалось испарением и увеличением влажности.

При опытах с растущими растениями приходится считаться с тем количеством воды и воздуха, какое имеется в растении, и выводить заключение о состоянии древесины на основании внешних признаков и условий произрастания и т. д.

В первом случае на поверхность срезанных ветвей наносится грибница или конидии из чистых культур, и каждая ветвь помещается в отдельный закрытый сосуд, чтобы с момента заражения

поддерживать в них постоянное содержание воды. На растущих деревьях грибница из чистых культур вносится в высверленные отверстия, которые потом закрывались пробкой.

При опытах с искусственным заражением листьев приходится руководствоваться другими соображениями, так как листья во всяких условиях содержат вполне достаточное для гриба количество воздуха.

Существуют некоторые грибы, паразитирующие на листьях, но способные заражать их лишь при особом их состоянии, причина и суть которого пока неизвестны. Можно назвать *Heterosporium syringae,* которого автор считает причиной одной болезни листьев сирени, но споры которого не проникают в здоровые листья (Клебан, 1905), *Gnomonia platani* и виды *Venturia* (*Fusicladium*) на яблонях и грушах (Адерхольд — Aderhold, 1896, Клебан, 1918), хотя и очень вредных паразитов, но которые не легко заражают. Сюда же можно причислить и чернь злаков (Зорауэр, 1894).

Причину возникновения болезни следует искать или в крошечных повреждениях, вызываемых мельчайшими насекомыми, которые открывают доступ грибам, или же, скорее, в сложных отношениях обмена веществ, чем в содержании воды и воздуха, которые обычно обусловливают восприимчивость. Вызвать такое состояние искусственно едва ли удастся, поскольку суть его недостаточно известна.

Если же мы будем воздействовать на растение в этом направлении, то чаще всего это воздействие будет настолько сильно, что поведет к иным повреждениям, чем те, которые желательно было вызвать. В природе, по всей вероятности, дело идет о нарушениях менее значительных, но действующих более продолжительное время. Здесь кстати будет упомянуть, что Шаффниту (Schaffnit, 1912), выращивая растения в синем свете (под саксовским колоколом), удалось создать такое состояние, при котором оказалось возможным вызвать заражение *Fusarium nivale.*

Некоторый свет на эти явления бросает наличие известной категории грибов, которые созревают весною на перезимовавшей листве; споры их тотчас же попадают на молодую листву, но не вызывают первоначально никакого поражения. И только осенью, когда листва старест, или, может быть, еще позднее, когда начинает отмирать, развитие грибка идет быстро вперед. Возможно, что большинство этих грибов — сапрофиты, но некоторые из них

становятся паразитами на поздних стадиях развития органа (Altersparasiten), так как они, повидимому, способны поражать лишь стареющуюся листву.

В известных случаях искусственное заражение грибами можно с успехом производить при помощи чистых культур, так как в этих случаях можно располагать большим количеством спор, а также можно использовать и самую грибницу.

Для этого следует предположить, что соответствующие грибы можно выращивать на искусственных средах, между тем это до сих пор не было достигнуто для *Uredineae*, *Erysiphaceae*, большинства *Peronosporaceae* и многих других.

Aderhold R. Die Fusicladien unserer Obstbäume. Landw. Jahrb., 25 (1896).

Appel O. und Wollenweber H. W. Grundlagen einer Monographie der Gattung Fusarium. Arb. a. d. Kais. Biol. Anstalt f. L. u. F., 8 (1910).

Bernard N. Recherches expérimentales sur les Orchidées. Rev. gén. de Bot., 16 (1904).

Brefeld O. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Leipzig, 4, 1881, 14, München, 1908.

Cruchet P. Contributions à l'étude biologique de quelques Puccinies sur Labiées. Zentralbl. f. Bact. (2), 17 (1906).

Eriksson J. und Henning E. Die Getreideroste. Stockholm 1896.

Eriksson J. Sur l'origine et la propagation de la rouille des céréales etc.? Ann. sc. nat., 8, 3, 14 et 15 (1902).

Fischer Ed. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über Rostpilze. Beitr. z. Kryptogamenflora d. Schweiz, 1, Bern 1898.

Hartig R. Der Krebspilz der Laubholzbäume. Unters. a. d. Forstbot. Inst München, 1 (1880).

— Lehrbuch der Baumkrankheiten. 2 Aufl., 1889, S. 18.

Hasler A. Beiträge zur Kenntnis der Crépis und Centaurea Puccinien etc. Zentralbl. f. Bakt., (2) 48 (1918).

Klebahn H. I. Ein Beitrag zur Getreiderostfrage. Zeitschrift für Pflanzenkrankh., 8 (1898).

— II. Die wirtswechselnden Rostpilze. Berlin 1904.

— III. Über die Botrytiskrankheit und die Sclerotienkrankheit der Tulpen etc. Jahrbuch d. Hamburger wiss. Anstalt., 22, 3 Beih., 1904.

— IV. Untersuchungen über einige Fungi imperfecti etc. Jahrb. f. wiss. Bot., 41, 1905.

— V. Krankheiten des Flieders. Berlin 1909.

— VI. Haupt- und Nebenfruchtformen der Ascomyceten. Leipzig 1918.

— VII. Die Schädlinge des Klippfisches a. d. Inst. f. allg. Bot. in Hamburg, 4 (1919).

Macé E. Traité pratique de Bactériologie. Paris 1889.

Methus J. E. Culturing of parasitic fungi on the living host. Phytopathology, 2 (1912).

Münch E. Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzpflanzen. Naturw. Zeitschr. f. Forst- und Landw., 7, 1909.

Plowright Ch. B. A Monograph of the Britisch Uredineae and Ustilagineae. London 1889.

Schaffnit E. Der Schneeschimmel etc. Landw. Jahrb., 43 (1912).

Sorauer P. Die Untersuchungen von E. Janczewski über Cladosporium herbarum. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten, 4 (1894).

Tubeuf C. v. Beschreibung des Infectionshauses etc. Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- und Forstw. a. Kais. Gesundh. Amt., 2 (1901).

В. МЕТОДЫ ЗАРАЖЕНИЯ ДЛЯ ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП.

I. БАКТЕРИИ КАК ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ.

Бактерии будут рассматриваться здесь постольку, поскольку они являются причиной болезней растений. Известно немало болезней растений, вызываемых бактериями, и для некоторых из них эта связь доказана при помощи искусственого заражения. Бактерии обыкновенно находятся в клетках или межклеточных пространствах пораженных тканей. Как правило, при постановке опытов искусственного заражения надо стараться ввести бактерии в поранение, вызванное на подопытном растении.

Самый простой способ прививки состоит в том, чтобы какой-нибудь стерильный инструмент, хотя бы острый нож, ввести сначала в больное место, а вслед за тем в поранение на подопытном растении. Нет надобности подчеркивать, что предназначенное для прививки место на растении надо сделать насколько возможно стерильным (т.-е. освободить от всяких микроорганизмов). Для более точных исследований, где одновременно надо выяснить все признаки и свойства данной бактерии, надо пользоваться всеми применяемыми в бактериологии методами чистых культур. Иногда целесообразно употреблять для приготовления питательной среды отвар того растения, на котором паразитирует интересующий нас микроорганизм.

Такие опыты могут дать не один вид бактерий, и лишь путем искусственного заражения можно установить патогенность различных видов.

Прививка из чистой культуры — вещь несложная и производится вышеуказанным способом.

Для точного выяснения способа, каким происходит заражение в естественных условиях, необходимо установить, могут ли бактерии проникать в неповрежденные части растения. В некоторых

случаях установлено, что бактерии проникают через устьица и гидатоды (водяные устьица).

В других — быть может в большинстве случаев — заражение происходит через поранения, которые могут быть вызваны укусами насекомых или улиток; так что здесь на-ряду с болезнетворным организмом надо иметь в виду причины, способствующие возникновению болезни.

Бактерии переносят из культуры на неповрежденное растение и на различные его части обыкновенно просто при помощи кисточки или пульверизатора. Надо принять во внимание, что очистить поверхность живого растения от присутствия микроорганизмов можно лишь при помощи обмывания или опрыскивания водой и что при неблагоприятных условиях некоторые, и именно патогенные, организмы могут остаться на растении.

После прививки, как обыкновенно, надо поместить растение в такие условия, которые способствовали бы поражению растения привитым организмом, и уберечь его от посторонней инфекции.

Для этого растение помещают под стеклянный колокол, а затем, после удаления его, в вегетационный домик.

Можно привести некоторые интересные примеры.

Причиной бурой гнили капустных растений считают *Pseudomonas campestris.*

Чистые культуры этой бактерии можно иметь на желатине, вареном картофеле или луке, мясном бульоне, отваре капусты и т. д. Заражение листьев растения можно вызвать, если внести бактерии в капельки воды, которые выступают на краях листьев во влажной атмосфере через водяные устьица.

В сухом воздухе эти капельки всасываются обратно, и бактерии проникают внутрь растения и развиваются в сосудисто-волокнистых пучках, окрашивая их в бурый цвет. Болезнь может переходить из листьев в стебли, клубни и корнеплоды, но ее можно вызвать здесь также непосредственно, прививкой бактерий. В природе роль переносчиков, по всей вероятности, играют улитки и гусеницы капустных белянок (Смит, 1897—1898, Хекке, 1902).

По Буссе (Busse, 1904), бактерии, вызывающие болезнь соргового проса (Andropogon sorghum), проникают в ткань через устьица. Однако сомнительно, чтобы мы имели дело в этом случае с настоящим паразитом.

Мокрую гниль картофеля Крамер (Kramer, 1891) вы-

зывал искусственно. Внешне здоровые, хорошо обмытые и простерилизованные раствором сулемы клубни картофеля помещали в вытяжку из картофеля, к которой прибавляли 1—2% декстрозы и которую заражали *Bacillus solaniperda*. В этом случае бактерии вызывали явления болезни сами по себе. Однако приходится отметить, что здесь клубни продолжительное время находились в неестественной и вредной для них среде.

Что же касается других болезней, вызываемых бактериями и которые изучены экспериментально, то бактерии здесь обыкновенно брали из чистых культур и переносили в поранения, сделанные ножом или иглой. Среди этих болезней можно упомянуть Mal nero винограда — *Bacillus vitivorus* (Баккарини, 1893), рак олив — *Bacillus oleae* (Савастано, 1886), гниль свеклы — *Bacillus Bussei* (Буссе, 1897), бактериальную болезнь сирени — *Pseudomonas syringae* (Бейеринк — 1902, van Hall — 1902), камедную болезнь сахарного тростника — *Pseudomonas vascularum* (Смит, 1904), бактериоз вишни (Адерхольд и Руланд, 1907).

Возбудителя бактериальной болезни гиацинтов — *Pseudomonas Hyacinthi* Смит (Smith E., 1908) переносил уколом иглы или впрыскиванием заразного начала в середину здорового листа. Очень может быть, что в садовой практике причиной распространения болезни является нож садовода во время сбора луковиц. Болезнь картофеля, причиной которой является *Bacillus solanacearum*, Смит (1896) перевивал таким образом: он переносил картофельного жучка (Doryphora decemlineata), поедавшего больной картофель, на здоровый.

Как особо характерный случай приходится упомянуть клубеньковые бактерии бобовых. Первоначально это были паразиты, которые непосредственно поражали здоровые неповрежденные корни и на тех местах, куда они проникали, вызывали появление клубеньков. Позднее растение сумело использовать это поражение для добывания азота.

Бактерии проникают непосредственно через кожицу корней, в частности в корневые волоски и развиваются дальше как в них, так и в соседних клетках.

Заражение происходит само собой, если данные бактерии имеются в почве (*Bacillus radicicola*), или же если их внести в простерилизованную почву из культуры, или, наконец, если их ввести непосредственно в корни, свободные от бактерий.

Для этой цели могут служить раздавленные клубеньки, содержащие внутри своих тканей бактерии, или вытяжка из почвы на которой растут клубеньковые бобовые того же вида, или чистые культуры, полученные обычным путем и проверенные путем искусственного заражения.

Благодаря способности клубеньковых растений накапливать азот, заражение ими почвы в большом масштабе имеет большое значение для сельского хозяйства. Поэтому культуры эти изготовляются фабричным способом. При заражении ими семена смачиваются водой с разболтанными в ней бактериями и высеиваются после того, как жидкость на них высохнет. Таким образом бактерии оказываются в непосредственной близости с молодыми растениями, и это способствует их заражению.

Надо еще отметить, что для отдельных видов бобовых имеются приспособившиеся к ним расы бактерий, и потому, чтобы получить с ними желаемый результат, необходимо выбирать соответствующие культуры.

Aderhold R. und Ruhland W. Der Bakterienbrand der Kirschbäume. Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- und Forstw. d. Kaiser. Gesundh.-Amt., 5 (1907).

Baccarini P. Il mal nero della vite. Le staz. sperim. agrar. ital., 25 (1893).

Beycrinck M. W. Die Bakterien der Papiliona ceenknöllchen. Bot. Ztg., 46 (1888).

Busse W. Untersuchungen über die Krankheiten der Sorghumhirse. Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- und Forstw. d. Kais. Gesundh.-Amt., 4, 319 (1904).

— Bakteriologische Studien über die Gummosis der Zuckerrüben. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten, 7, 65 (1897).

Frank B. Über die Pilzsymbiose der Leguminosen. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 7 (1889).

Hall C. J. J., van. Bijdragen tot de Kennis der bakterieele Plantenziekten. 1902.

Hecke L. Die Bakteriose des Kohlrabi. Zeitschr. f. d. landw. Versuchsw. in Österreich. 1901 u. 1902.

Höchster Farbwerke. Die Bodenimpfung für Leguminosen. Höchst 1897.

Jones L. R. Bacillus carotovorus, die Ursache einer weichen Fäulnis der Möhre. Zentralbl. f. Bakt., (2) 7, 12 (1901).

Kramer E. Bakteriologische Untersuchungen über die Nassfäule der Kartoffelknollen. Österr. landw. Zentralbl., 1, 11 (1891).

Prazmowski A. Über die Wurzelknöllchen der Leguminosen. Bot. Zentralbl., 36 (1888).

Savastano L. Tuberculosi, iperplasie e tumori dell'olivo. Napoli 1887. Compt. rend., 103, 1144 (1886).

Smith E. F. A bacterial disease of the tomato etc. U. S. Depart. of Agric. Div. of veg. phyt. and path. Bull., № 12, 1896.

— Pseudomonas campestris, the cause of a brown rot in cruciferous plants. Zentralbl. f. Bakter., (2) 3, (1897).

— Pseudomonas campestris, die Ursache der Braun- oder Schwarz-Trockenfäule des Kohls. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., 8, 134 (1898).

— Wakkers Hyacinth germ. U. S. Dep. of Agric. Div. of veg. phys. and path. Bull., № 26 (1901).

— The effect of Black Rot on Turnips. U. S. Dep. of Agric. Bur. of Plant. Ind. Bull., 29. Washington 1903.

— Ursache der Cobbschen Krankheit des Zuckerrohres. Zentralbl. f. Bakt., (2) 13, 729 (1904).

II. MYXOMYCETAE.

Plasmodiophora.

Plasmodiophora brassicae, возбудитель капустной килы, причисляется до сих пор к *Myxomycetae*, хотя, пожалуй, он больше относится к *Chytridiaceae*. Кила является одной из самых распространенных и самых опасных болезней крестоцветных. Воронин (1875, 1878), открывший эту болезнь, производил искусственное заражение следующим образом: он выращивал семена капусты в цветочных горшках в земле, к которой прибавлял гниющие куски килы и поливал водой, в которой находились куски капусты, пораженной килой. Тот же результат получался, когда автор проращивал семена в часовых стеклышках в воде, к которой подбавлялись споры из гниющих кусков больной капусты.

Установлено, что споры, прорастая после перезимовывания, дают начало крошечным зооспорам, и не подлежит сомнению, что последние отыскивают корни и проникают в них. Сам процесс проникания до сих пор не наблюдался. Не наблюдалось также проникание в клетки и плазмодиев. Воронин высказывал предположение, что возможно и более позднее заражение после того, как первичная кора корня бывает сброшена.

Woronin M. Die Wurzelgeschwulst der Kohlpflanzen. Bot. Ztg., 33 (1875).
Plasmodiophora brassicae etc. Jahrb. f. wiss. Bot., 11 (1878).

III. НАСТОЯЩИЕ ГРИБЫ (MYCOMYCETES).

A. PHYCOMYCETAE.

1. Chytridineae.

Chytridineae — все паразиты: в меньшей части на высших растениях, в большей — на водных слоевцовых, особенно водорослях;

частью паразитируют на животных. Все они образуют спорангии, которые дают начало зооспорам, а некоторые и ооспорам, в которых точно так же, как в спорангиях, после некоторого периода покоя развиваются зооспоры. Заражение связано с наличием воды. Зооспоры самостоятельно отыскивают себе хозяина; по всей вероятности это обусловливается химическим раздражением со стороны последнего. Путь, который они при этом проходят, естественно, самый короткий. В том случае, когда питающее растение (растение-хозяин) живет в воде, достаточно положить зрелые спорангии или зооспоры поблизости предназначенного для заражения растения.

В первую очередь, значит, следует иметь хорошо растущую культуру тех растений, которые в данном случае подвергаются заражению. Вслед за тем следует приготовить тот материал, которым предполагают произвести заражение. В некоторых случаях исходным материалом для получения нужных паразитов может послужить ил из сосудов, содержащих покоящиеся споры. Когда питающее растение является сухопутным или когда грибы поражают воздушные части водных растений, заражение их зависит от случайного наличия здесь воды. Заливание водой, проливные дожди, в некоторых случаях просто сильный дождь вызывают выбрасывание спор и рассеивание их, и этого уже бывает достаточно для заражения. Так, Балли (Bally, 1911) указывает, что в швейцарских условиях достаточно бывает таяния снега в течение одного дня с южным ветром (Föhntag), чтобы произвести заражение грибком *Synchytrium taraxaci* листьев Taraxacum, до сих пор находившихся под снегом. Производя искусственное заражение, приходится по возможности подражать всем этим условиям.

Некоторые виды этой группы селятся на пыльце высших растений, которая попадает в воду, или в спорах грибов, живущих на суше. Эти виды можно получить, если посеять цветочную пыльцу на болотной воде или просто в воде, к которой подбавили немного болотного ила.

a) WORONINACEAE, OLPIDIACEAE, ANCYLISTEAE, RHIZIDIACEAE, HYPHOCHYTRIACEAE, CLADOCHYTRIACEAE.

Большинство представителей этих семейств живет паразитически на низших водных растениях.

Небольшое число родов — *Olpidium, Cladochytrium, Physoderma, Urophlyctis, Rhizomyxa* — являются паразитами явнобрачных, особенно произрастающих на сырых местах.

Некоторые роды, именно *Urophlyctis*, довольно подробно исследованы, но мало что известно относительно опытов искусственного заражения..

А. Борци (Borzi, 1884) заражал проростки Capsella грибком *Rhizomyxa hypogaea* таким образом: молодое растеньице было прикреплено к пробке бутылки, в которой находилось настолько воды, что корешок растения был в нее погружен. На донышке бутылки были помещены части зараженного растения. Спустя несколько дней зараженные части растения были удалены, а растение было перенесено в песок, где его поливали дождевой водой. Микроскопическое наблюдение производилось в капле воды, куда вносили молодые корешки и зооспоры. В благоприятных условиях проникание происходит в 1—2 минуты. Заражение производилось и на Trifolium resupinatum.

Немец (Nêmec, 1913) производил опыты с *Anisomyxa plantaginis,* который живет в корнях Plantago lanceolata. Автору удавалось получить обильное заражение в тех случаях, когда он примешивал к стерильному песку, в котором культивировались подопытные растения, корни больных растений или когда ставил семена прорастать в чашках, в которых росли больные растения.

К перечисленным грибам и именно к группе *Olpidiceae* — согласно нашим нынешним знаниям — следует причислить *Chrysophlyctis endobiotica,* гриб, вызывающий пагубную для картофеля болезнь, так называемый рак картофеля. Споры образуются в клетках неправильных бугорчатых выростов клубней, и эти клетки, согласно Джонсону (Johnson, 1908), в определенных, им подробно не описанных условиях превращаются в спорангии и дают зооспоры. Заражение, как указывает Персиваль (Percival, 1910), может быть вызвано, если перенести спорангии, образующие зооспоры, на глазки картофеля. Позднее, согласно описаниям Потера (Potter, 1902—1903) и Шпикерман (Spieckermann, 1908), в клетках обнаруживается присутствие плазмодиев, которые потом превращаются в покоящиеся споры, большей частью по одной в каждой клетке. Повидимому и другие молодые ткани картофельного растения могут быть заражены. Искусственное заражение ставилось таким образом: проростки картофеля высаживались в горшки с почвой, в которой перезимовывали больные раком клубни.

Споры способны сохранять свою жизнеспособность в почве в течение 6—7 лет.

Atkinson G. F. The genus Harpochytrium in the United States. Ann, myc., 1 (1903).

Borzi A. I. Rhizomyxa. Messina 1884.

— II. Protochytrium spirogyrae. Nuovo giorn. bot. ital., 16 (1884).

Johnson T. Potato black scab. Nature 79 (1908).

Zagerheim G. Sur un nouveau genre des Chytridiacées etc. Journal de Bot., 2 (1888).

Magnus P. Über eine neue unterirdischlebende Art der Gattung Urophlyctis. Ber. d. deutsch. bot. Ges., 19 (1901).

— Über die in den knölligen Wurzelauswüchsen der Luzerne lebende Urophlyctis. Там же, 20 (1902).

Němec B. Zur Kenntnis der niederen Pilze. V. Über die Gattung Anisomyxa. Bull. intern. de l'Acad. de Science de Bohême, 18 (1913).

Nowakowski L. Beitrag zur Kenntnis der Chytridiaceae. Beitr. z. Biol., 2. Heft 2 (1887)

Persival G. Potato Wart disease. Zentralbl. f. Bakt., (2) 25 (1910).

Potter M. C. A new Potato disease. The journ. of the Board of Agric. 9, 320 (1902/03).

Schilberszky K. Ein neuer Schorparasit der Kartoffelknolle. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 14 (1896).

Spieckermann A. Über das Vorkommen von Chrysophlyctis endobiotica in Westfalen. Prakt. Bl. f. Pflanzenb. u. Pflanzensch., 6, 113 (1908).

b) SYNCHYTRIACEAE.

Зооспоры видов *Synchytrium* проникают в клетки кожицы растения-хозяина, вызывают их ненормальное разрастание и возбуждают усиленное деление в соседних клетках. Таким образом возникают темно и ярко окрашенные галлы. Паразит развивается или в круглый спорангиальный комочек, который еще в течение лета дает зооспоры, или же в покоящуюся спору, из которой через некоторое более продолжительное время (после зимнего покоя) опять выходят зооспоры.

А. де-Бари (A. de Bary) и Воронин (1865) вместе с описанием *Synchytrium* излагают очень успешные опыты искусственного заражения.

Если перенести свеже отпрепарированный спорангиальный сорус в воду, то содержимое его распадается на отдельные зооспоры, которые спустя некоторое время выходят на свободу. Можно получить очень большое количество их, если части Taraxacum, на которых имеются многочисленные сорусы, положить в сосуды с чистой водой. Через 12—18 часов их будет так много, что вода получит красивую светложелтую окраску. Для опытов искусственного заражения следует брать растеньица Taraxacum, выращенные в горшках и относительно которых на основании продолжи-

тельного наблюдения можно быть уверенным, что они не заражены. Такие растеньица выкапывают с корнями, обмывают и кладут в воду, содержащую зооспоры, таким образом, чтобы листья были покрыты водой. Спустя некоторое время их вынимают из воды, сажают в горшки и растят, как обыкновенные комнатные растения. Воду, оставшуюся на листьях, или сохраняют в течение нескольких часов, поместив растения в насыщенную влагой атмосферу, или дают ей медленно стечь, или, наконец, тотчас же удаляют ее пропускной бумагой. Все опыты дают один и тот же результат: все вполне развившиеся листья будут свободны от паразитов; у всех, бывших в момент операции в стадии развития, через некоторое время наблюдаются под микроскопом начальные стадии поражения, и позднее они густо покрываются галлами и сильно изменяют форму; листья же, раскрывшиеся после погружения, будут тоже свободны от паразитов (1865). Нет точных данных относительно длительности срока погружения, необходимого для заражения. Но так как обыкновенно зооспоры прикрепляются к поверхности растения уже через час после погружения, то, безусловно 4—5 часов бывает вполне достаточно. Дальнейшие опыты производились с растениями, культивируемыми в горшках; их просто опрыскивали водой с зооспорами, и в этом случае точно также оказывались зараженными все молодые листья и на тех местах, которые были смочены. Опыты со срезанными листьями не рекомендуются, так как они дадут возможность наблюдать только проникание паразита и первые стадии поражения.

Для опытов с покоящимися спорами, покрытыми плотной оболочкой и прорастающими после длинного периода покоя, де-Бари и Воронин (1865) брали сухие галлы с содержащимися в них покоящимися спорами и переносили их на влажную почву. Ткань сгнивала, и спустя 8—12 дней в спорах замечались изменения. Перенесенные в воду, через некоторое время они точно так же, как и спорангии, распадались на отдельные зооспоры.

Относительно опытов заражения этими зооспорами де-Бари и Воронин ничего не сообщают; в одной же позднейшей работе с *Synchytrium mercurialis* (1868) в вопросе относительно опытов заражения зимующими спорами Воронин ссылается на результаты предыдущих работ. Части растения, содержащие споры, перезимовывали в почве, в горшках, немного прикрытые землей.

Шрётер (Schroeter, 1875) доводил покоящиеся споры до образования зооспор, именно у *Synchytrium mercurialis,* часто

переменяя воду, в которой они находились. Автор установил, что полученные таким путем зооспоры *Synchytrium succisae* проникают в клетки кожицы питающего растения.

Ритц (Rytz, 1906) также производил наблюдения над прорастанием покоящихся спор. Перезимовавшие споры *Synchytrium alpinum*, перенесенные во влажные камеры, образовали уже на следующий день сорусы с 30—40 спорангиями. В таких же спорах *Synchytrium cupulatum*, взятых из-под снега, в феврале или марте уже можно было различить образование сорусов. Споры *Synchytrium saxifragae*, которые вместе с листьями и стеблями хозяина-растения в течение зимы держали под часто меняемой водой, в феврале и марте дали также сорусы. Получить дальнейшее развитие спорангия вплоть до момента освобождения зооспор Ритцу не удалось. По его словам, опыты с искусственным заражением почти совсем не удались (1907).

Ф. Тома (Fr. Thomas, 1889) делает указания относительно опытов, в которых заражение было предоставлено естественным факторам, но где вместе с тем учитывался переход гриба на различные виды растения. Автор высаживал Viola biflora, листья которой были покрыты галлами *Synchytrium alpinum*, вместе с Adoxa, восприимчивость которой испытывали. Растения были посажены вместе без разбора и в течение зимы были защищены от мороза. Весной на одну неделю горшки были покрыты снегом, а затем было устроено „наводнение". Первые признаки образования галл *Synchytrium* появились на листьях Viola 25 апреля, между тем как Adoxa оказалась не пораженной.

Bally W. Cytologische Studien über Chytridineen. Jahrb. f. wiss. Bot., 50 (1911).

Bary de A. und Woronin M. Beiträge zur Kenntnis der Chytridineen. Ber. über d. Verh. d. naturw. Ges. zu Freiburg in. Br., 3 (1865).

Rytz W. Beiträge zur Kenntniss der Gattung Synchytrium. Zentralbl. f. Bakt., (2) 16 (1906); (2) 18 (1907).

Schroeter J. Die Pflanzenparasiten aus der Gattung Synchytrium. Beitr. z. Biol., 1 (1875).

Thomas Fr. Synchytrium alpinum. N. sp. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 7 (1889).

Woronin M. Neuer Beitrag zur Kenntnis der Chytridineen. Bot. Ztg., 26 (1868).

2. Oomycetae.

Oomycetae, за исключением большинства *Saprolegniaceae*, являются паразитами высших растений. Заражение питающего растения про-

исходит или при помощи зооспор после выхода их из спорангия, или посредством конидий, которые в некоторых случаях можно рассматривать как измененные и непосредственно прорастающие спорангии, или же, наконец, ооспорами, являющимися результатом полового процесса и которые, как правило, обыкновенно прорастают только после некоторого продолжительного времени покоя.

a) SAPROLEGNIACEAE.

Большинство видов — сапрофиты, живущие в воде на мертвых насекомых. *Saprolegnia ferax* нападает на живых рыб, обусловливая гибельную для них болезнь. Муррею (Murray, 1885) удавалось переносить гриб с пораженных мух на различных рыб — Salmo fario и виды Leuciscus, — натирая кожу рыб больными мухами. Самым подходящим для этого местом будут бока между жабрами и хвостовыми плавниками. Первые результаты в некоторых случаях были замечены уже спустя 3—4 дня, а в течение 2—3 недель животные погибали. *Saprolegnia* поражает также раков. *Aphanomyces laevis* вызывает заболевание кормовой и сахарной свеклы. Петерс (Peters, 1810) обнаружил поражение боковых корней на взрослой свекле, развившейся от продезинфицированных семян, которые затем были заражены чистой культурой *Aphanomyces* и высажены в стерильную почву, чем исключалась возможность посторонней инфекции. При дезинфекции семена сперва помещались на $^1/_2$—$^3/_4$ часа в концентрированную соляную кислоту, затем обмывались известковой водой и на следующий день выдерживались в 56° воде. Стерилизация почвы производилась троекратным нагреванием ее до 120° в течение следующих друг за другом трех дней, в продолжение 1—2 часов ежедневно. Заражение семян производилось грибницей, которую переносили на семена. Поражение корневой гнилью получали также, заражая семена свеклы корнями, пораженными *Aphanomyces*.

Под именем *Jaraïca salicis* Немец (1913) описывает новый вид *Saprolegniaceae*, который живет паразитически в верхушках корней Salix purpurea. Заражение удается легко. Следует только к хорошей водной культуре Salix purpurea, с хорошо развитыми корнями, прибавить верхушки корней, разбухших от *Jaraïca*, и уже спустя 10—14 дней некоторые верхушки корней подопытной культуры начинают разбухать. Заражение можно получить тоже, культивируя растение в сыром песке, куда были воткнуты зараженные корни; но здесь станут заметными первые вздутия только через

четыре недели. Удавалось заражать тоже Salix vimialis и S. amygdalina, но не Salix alba.

b) PERONOSPORACEAE.

Pythium.

Pythium de Baryanum вызывает полегание сеянцев у многих растений благодаря повреждению ткани гипокотиля и отмиранию этого последнего. Органами размножения являются спорангии с зооспорами, а также ооспоры и конидии. Р. Хессе (1874) первый описал этот гриб и произвел опыты искусственного заражения. Он помещал в капле воды на предметном стекле рядом молодой здоровый проросток или сеянец Camelina sativa и пораженный *Pythium*. Можно было наблюдать гифы гриба, которые развивались по направлению к здоровому растеньицу и внедрялись непосредственно в его клетки, даже помимо устьиц (1874). Если пораженный проросток с грибницей на нем перенести в сосуд с водой, то уже спустя 24 часа начинают образовываться зооспоры. Если затем в надлежащий момент каплю воды с содержащимися в ней зооспорами перенести на предметное стекло и положить туда здоровый проросток *Camelina*, то можно тут же наблюдать проникание в него ростковой трубки зооспоры. Далее, на влажной фильтровальной бумаге под стеклянным колоколом раскладывают семена Camelina на расстоянии 1 *см* друг от друга, а рядом с одним прорастающим зерном помещают пораженный проросток. В этом случае можно проследить переход болезни с одного проростка на другой. Наконец в этих же опытах с соответствующим результатом высеивались семена различных растений (Camelina sativa, Trifolium repens, Spergula arvensis, Panicum miliaceum) в горшки с землею, в которой подозревали присутствие *Pythium* (1874).

Садебек (Sadebeck, 1875) заражал проталлы Equisetum при помощи *Pythium equiseti* (= *P. de Baryanum*) тем же способом, что и Хессе, помещая здоровые вместе с пораженными в часовые стеклышки. Заражение происходит при помощи грибницы.

Петерс (Peters, 1910) получал корневую гниль на проростках свеклы. С этой целью он высаживал в стерильную почву продезинфицированные семена этого растения, а рядом втыкал корни, пораженные *Pythium de Baryanum*, или же наносил споры или грибницу из чистых культур на клубочки семян или на молодые растеньица (1913). Петерс заражал им также шпинат, сажая его

в почву, содержащую гриб. Очень мало известно относительно употребления для опытов искусственного заражения ооспор, сохраняющихся в почве, а также об их развитии. Де-Бари (1881) наблюдал прорастание ооспор после продолжительного периода их покоя (4—5 месяцев), но опытов искусственного заражения с ними не производил.

Cystopus (Albugo).

Cystopus candidus (*Albugo candida*) является очень распространенной болезнью Capsella bursa pastoris и других крестоцветных. На различных надземных частях появляются пустулы, содержащие цепочковидно отделенные конидии, а в разбухших обыкновенно и изуродованных частях вблизи цветка, внутри тканей, образуются ооспоры. Точное исследование гриба было произведено де-Бари. Если конидии грибка перенести в воду так, чтобы они были едва смочены, то в них развиваются зооспоры, которые уже через $1^1/_2$—3 часа начинают выходить на свободу. Развитие зооспор наблюдается почти всегда на свежеобразовавшихся конидиях, но его можно видеть также на материале, хранившемся в комнате в течение $1^1/_2$ месяцев. Зооспоры развиваются также из ооспор после продолжительного периода покоя. Для наблюдения над ними надо поступать, по де-Бари, следующим образом: часть растения, сохранявшуюся до сих пор сухой, помещают на 1—2 дня в воду, а затем переносят на влажной фильтровальной бумаге на сырую почву. Ткани, содержащие ооспоры, разлагаются, и через 4—8 дней можно наблюдать образование зооспор, если освободившиеся ооспоры перенести в чистую воду. Условия опыта, следовательно, соответствуют естественному выветриванию тканей и прорастанию ооспор в дождевой воде. Перезимовывание ооспор на воле не является необходимым условием для прорастания, хотя перезимовавший на воле материал оказался для опытов особенно пригодным.

Зооспорами, полученными тем или иным способом, можно заразить питающее растение. Де-Бари установил, что заражение не происходит через корни. Он погружал корни молодых растений Capsella bursa pastoris, Lepidium sativum и Sinapis alba на несколько часов, иногда даже на 1—2 дня, в воду, содержащую зооспоры, и хотя зооспоры прорастали, но их ростковые трубки не проникали в корни растений.

Дальше он поливал сеянцы, растущие в цветочных горшках,

водой с большим количеством зооспор и при этом наблюдал, чтобы надземные части не были смочены. Растения тогда оставались здоровыми. Затем капли воды с зооспорами наносились на надземные части молодых растений. Чтобы предохранить почву от испарения, растение покрывали стеклянным колоколом. Спустя несколько часов исследование тонких поверхностных срезов показало, что зооспоры скопились у устьиц, проросли и проникли своими ростковыми трубками сквозь устичные щели. Только в семядолях ростковые трубки развились в грибницу. Повидимому гриб достигает полного развития только тогда, когда он проникнет в семядоли. Чтобы решить, можно ли это считать общим правилом, необходимы еще дальнейшие исследования. На Heliophila crithmifolia можно заразить и другие листья.

Для дальнейших опытов служили сеянцы кресса Lepidium sativum, которые можно легко выгнать в любое время. Бо́льшая часть сеянцев служила для контроля и дала вполне здоровые растения. Некоторые из них затем погружали первыми листочками на несколько часов в воду с зооспорами, а затем высаживали. Другие, которые выращивались в горшках, просто смачивали водой с зооспорами, некоторое время выдерживали под стеклянным колоколом, а потом подвергали исследованию. Установлено, что заражение семядолей сопровождалось развитием гриба и заболеванием растений. Развитие гриба оканчивалось образованием конидиальных пустул не только на семядолях, но и на позднее развившихся листьях и побегах. В последнюю очередь развиваются зооспоры. Де-Бари установил только проникание ростковых трубок и самый факт заражения; затем Эберхардт (A. Eberhardt, 1904) гораздо позднее поставил более широкие опыты с целью установить переход гриба с одних питающих растений на другие, т.-е. их специализацию. Так как при такого рода исследованиях отрицательные результаты имеют существенное значение, то для этих опытов необходимо в полной мере овладеть техникой. Ввиду того, что степень развития подопытного прорастающего растеньица и состояние конидиального ложа, откуда будет взят гриб, имеют существенное влияние на результат опыта, требуются продолжительные наблюдения, чтобы иметь возможность изучить эти условия. Образование зооспор легче и обильнее всего происходит в том случае, если конидии взяты из такого ложа, которое сильно выпучено и созрело для выхода зооспор. Для того чтобы иметь материал в надлежащем состоянии, Эбер-

хардт нашел целесообразным завертывать его в сырую полотняную тряпку и класть в соответствующее место во избежание слишком сильного испарения. Чтобы воспрепятствовать развитию сапрофитических грибов, тряпка ежедневно промывалась большим количеством воды. Когда конидиальная масса находится в надлежащем состоянии, конидии снимают при помощи скальпеля и переносят в низенький цилиндрический стаканчик с небольшим количеством, слоем в 5—8 *мм*, чистой воды. Следует наблюдать, чтобы конидии были смочены и погрузились на дно. Каждый час проверяют, не появились ли зооспоры, рассматривая под микроскопом весь стаканчик или же захватывая при помощи стеклянной палочки каплю воды. Автор предлагает для будущих работ ставить опыты в воде, насыщенной кислородом, так как благодаря этому удавалось не только ускорить образование зооспор в спорангиях *Phytophthora syringae,* но даже и вызывать его. Удобнее всего начать опыты лишь тогда, когда окажется достаточное количество зооспор.

Вследствие того, что до сих пор при опытах употреблялись лишь прорастающие растения и именно в тот момент, когда их семядоли только что появлялись, приходится растения заготовлять своевременно, в достаточном количестве и в различной стадии развития, что у легко прорастающих крестоцветных не представляет особых затруднений. Прорастающие растеньица вынимают из цветочного горшка вместе с небольшим комочком почвы, соединяют их по несколько в один пук, обертывают их корни мокрой фильтровальной бумагой и завязывают ниткой. Каждый пучок должен быть за номером и соответствующими обозначениями. Теперь верхние концы растений погружают на 4—6 часов в жидкость, содержащую зооспоры, а корни оставляют лежать на краю стакана или же поддерживают снаружи его. Влажная фильтровальная бумага сохраняет свежесть корней и предохраняет стакан от засорения его землей. Спустя определенное время проростки высаживают в горшки, добавляя на этикетках соответствующие объяснения, и следят за их ростом и дальнейшим развитием. Как обычно, оставляют незараженные контрольные растения. Первые признаки удачного заражения появляются не раньше как через 12—14 дней в виде маленьких, сперва зеленых, потом белых пустул. Вопрос об отношении различных питающих растений к грибу и о существовании специализировавшихся форм гриба опытами Эберхардта окончательно не разъяснен и

требует дальнейших исследований. Также ждет своего разрешения вопрос, в какой стадии семядоли более всего подвержены поражению; может ли гриб проникать в другие органы, а именно в молодые почки между семядолями или в другие молодые части проростка. Отмеченные выше наблюдения над Heliophila указывают на подобные возможности. Дальше можно предположить, что в природе конидии рассеиваются скорее в сухом виде, и только дождь или роса вызывают в них образование зооспор. И, по всей вероятности, опыление прорастающих растений спорами и последующие повторные опрыскивания их водой должны бы дать те же результаты, что и опрыскивание их водой с находящимися в них зооспорами.

С другими видами *Cystopus* по существу можно вести исследование теми же методами, но, повидимому, с ними до сих пор опытов не ставили.

Phytophthora.

Виды рода *Phytophthora* образуют конидии на симподиально разветвленных конидиеносцах, которые обычно выступают из кожицы пораженных частей растения. Перенесенные в воду, конидии превращаются в спорангии, которые распадаются на большое количество зооспор. Другим видом органов размножения будут ооспоры, образующиеся внутри тканей и прорастающие после некоторого периода покоя. Зооспоры заражают вполне здоровые органы своих питающих растений, и для этого не требуется никакого особого состояния предрасположения растения-хозяина; гриб начинает свое развитие, как настоящий паразит. Пораженные части очень скоро буреют, что является признаком отмирания затронутых тканей. Уже во время прорастания спор клетки, граничащие с ростковой трубкой, буреют (де-Бари, 1861, 1863). Вследствие этого питание грибка очень скоро переходит в сапрофитическое, благодаря чему эти грибы легко культивируются на искусственных средах, где не только развивают грибницу, но и довольно легко дают органы размножения, как конидии, так и ооспоры. Основные исследования над *Phytophthora infestans*, возбудителем картофельной болезни, были произведены де-Бари (1861, 1863). В сырую погоду на больных частях листьев, особенно по краям, конидиеносцы образуют беловатый плесневидный налет. Количество их можно увеличить, если срезанные побеги поставить в воду или содержать во влажном воздухе. Конидии легко освобождаются.

Их можно стряхнуть на воду или непосредственно на здоровые, предназначенные для заражения листья, а также можно привести последние в соприкосновение с больными частями растения. Но конидии так малы, что в успешности прививки можно убедиться только по результатам или же при помощи микроскопического исследования. Если конидии были перенесены в воду, то лучше всего ждать образования зооспор и эту жидкость переносить на листья кисточкой, капиллярной трубочкой или пульверизатором.

Если конидии были перенесены непосредственно, то подопытное растение следует опрыскать водой и держать его влажным до тех пор, пока, предположительно, конидии не образуют зооспор, и непременно повторить опрыскивание. Во всех случаях заражаемое растение следует держать под стеклянным колоколом в течение 24 часов. Более продолжительное пребывание, согласно данным относительно срока развития конидий, кажется ненужным. Де-Бари (1861, 1863) производил свои опыты уже в феврале. Он сеял конидии в воду на часовых стеклышках и клал туда срезанные картофельные побеги. Спустя 3 часа можно было наблюдать образование зооспор, а на следующий день ростковые трубки проникали в растение непосредственно через кожицу. На третий день в межклетных пространствах была обнаружена обильная грибница, а на шестой показались конидиеносцы. Де-Бари не дает полных указаний относительно поставленных одновременно опытов с заражением листьев и только указывает, что ростковые трубки проникали в них на второй день, а первые конидиеносцы появились на четвертый.

Впервые зооспоры наблюдали в чистых культурах, где получили их, применяя особую среду (Петибридж, 1913).

Данные более старых авторов относительно мнимых ооспор ошибочны, и описанные Эриксоном (1916) образования с настоящими ооспорами ничего общего не имеют. Что же касается ежегодного повторного появления болезни, то содержащиеся в почве ооспоры едва ли могут быть причиной их, и, наоборот, неоднократно было установлено, что высаженные больные картофельные клубни являются первыми очагами болезни. Свои опыты с искусственным заражением де-Бари (1861) ставил следующим образом. Он разрезывал пополам вполне здоровый, чисто вымытый клубень, переносил каждую половинку в особую чашечку срезанной поверхностью кверху и покрывал их маленьким стеклянным колоколом. На донышко чашки наливали воды. Вслед за этим

на срезанную и смоченную поверхность одной из половинок наносилось незначительное количество спорангиев *Phytophthora*. Спустя некоторое время, при теплой погоде уже через два дня, замечалось побурение ткани, как следствие начинающегося заболевания. Сперва оно распространялось по поверхности среза, а затем охватывало ткань, находящуюся под кожицей. Позднее на поверхности выступал белый плесневидный налет, в котором находились спорангии *Phytophthora*. Контрольная же половинка подобных явлений не давала, и только на поверхности среза развивался новый корковый слой. Заражение возможно произвести через кожуру совершенно неповрежденного клубня. Для этого какую-нибудь часть больного растения, покрытую плодоношениями *Phytophthora*, прикладывают к чисто вымытой, смоченной кожуре подопытного клубня так, чтобы некоторое число спорангиев осталось здесь. Место, на которое были нанесены спорангии, отмечается кусочком смоченной пропускной бумаги. Потом клубень закапывают в почву. В среднем через 8 дней можно обнаружить заболевание клубня, при чем заражение шло от того места, где были посеяны конидии. Ростковые трубки растут перпендикулярно через слой клеток кожуры (де-Бари, 1863); могут ли они тоже проникать через толстую кожуру старых клубней, точно не указано. Для опытов искусственного заражения, при которых условия заражения соответствовали бы естественным, де-Бари сажал картофельные клубни в цветочные горшки на глубину 1—10 *см*, а на почву наносил конидии. Умеренное поливание с целью вызвать прорастание конидий оказалось достаточным, чтобы смыть зооспоры вглубь почвы и заразить клубни. Спустя 8—10 дней клубни заболевали.

Р. Гартиг (Hartig, 1880) производил опыты с *Phytophthora fagi*, грибом, вызывающим болезнь проростков бука. Если лопасти семядолей, на которые нанесли конидии, оставались влажными хотя бы в течение немногих часов, то этого бывало достаточно, чтобы заражение произошло. Спустя 3—4 дня на зараженных растениях уже развивались новые конидии. Автор сам получал тот же результат, пользуясь небольшими количествами чистой культуры. Гриб сохраняется в течение зимы в форме ооспор, которые обильно развиваются на семядолях и после их сгнивания попадают в почву. Гартиг (1880) поливал грядки с сеянцами буков водой, в которую было положено приблизительно 1,5 литра почвы с той грядки, на которой в предыдущем году болезнь была очень сильна (8 мая).

Сеянцы, около 8 000, в течение 8 дней казались вполне здоровыми, затем некоторые из них начали болеть (8 июня), и в следующие 10 дней все были поражены, а некоторые из них отмерли. Из дальнейших опытов этого рода Гартиг заключает, что ооспоры способны прорастать только в течение немногих недель после созревания, но в почве могут сохранять эту способность по крайней мере в течение 4 лет.

Относительно *Phytophthora syringae* автор сообщает собственные наблюдения (Клебан, 1909). Гриб поражает покоящиеся почки и кору ветвей сирени. В пораженных тканях возникают многочисленные ооспоры, между тем как конидии и спорангии не образуются или же возникают только в определенных условиях. Ооспоры вследствие разложения мертвых тканей постепенно освобождаются, попадают в почву и здесь, очевидно, производят заражение, как то показали наблюдения над появлением заболевания. Тем не менее для опытов ооспоры мало пригодны, так как их с трудом можно отпрепарировать. Болезнь на здоровые растения можно перенести с больных таким образом: подрезают кожицу здорового побега тангентальным срезом на небольшом расстоянии и туда вкладывают тонкую пластинку больной коры. Затем подрезанную кожицу накладывают обратно, рану обертывают листовым оловом, завязывают мочалой и ставят растение в вегетационный домик. Спустя приблизительно 14 дней побурение первоначально здоровой коры и присутствие ооспор указывают на то, что заражение произошло.

Для доказательства того, что заражение происходит через почву, опыт был поставлен следующим образом. Вокруг части побега живого растения на всю зиму был прикреплен цветочный горшок, предварительно разбитый на 2 части и позднее соединенный вместе после наполнения его землей для того, чтобы нужная часть побега была целиком окружена землей, в которую предварительно была внесена измельченная кора, содержащая ооспоры. Земля поддерживалась влажной в течение продолжительного времени. В другом случае побеги одного и того же растения осенью были связаны вместе, а между ними были вложены стружки больной коры и все это было обернуто марлей. Затем подопытные растения были положены горизонтально в пустые парниковые ящики и покрыты листьями и сосновыми ветвями, т.-е. были оставлены на зиму в таком виде, в каком оставляют горшки сирени, предназначенные для ранней выгонки. Следующей весной часть

побегов оказалась зараженной. При помощи чистых культур было обнаружено, что гриб этот образует тоже спорангии и зооспоры. Для получения чистых культур на питательную среду (агар с отваром салепа или слив) переносили кусочек больной коры или же часть грибницы, выросшей через чечевички из той же коры, помещенной во влажную атмосферу. Вследствие этого большинство культур было засорено или состояло из посторонних грибов. Настоящие культуры микроскопически малы и характерны образующимися в них ооспорами. Затем автор культивировал этот гриб в течение нескольких лет (в Erlenmeyero'вских колбах с притертой трубкообразной крышкой) на кусках стерилизованной моркови. В чистых культурах спорангии или не образовывались совершенно или же развивались очень скудно. Их можно получить в большом количестве, если продолжать культивировать грибницу в большом количестве чистой воды. Выбрасывание зооспор, которое обыкновенно очень замедляется или совершенно не происходит, можно вызвать в $^1/_4$ часа прибавлением к образовавшимся спорангиям воды, насыщенной кислородом. Это явление было использовано для искусственного заражения. На две верхушки побегов горшечных растений, в их покоящемся состоянии, надевали стеклянные трубки около 9 *см* длины и 18 *см* ширины так, чтобы обе верхние пары почек оказались внутри трубки. Снизу трубку плотно закрывали просверленной и пополам разрезанной пробкой.

Свежая вода для наполнения трубок заготовлялась в стакане, в котором в газовом мешечке было подвешено немного мицелия. Как только в воде появлялись зооспоры, ею наполняли трубки, а в стакан с оставшейся там грибницей наливали свежей воды. На следующий раз эта вода служила для наполнения трубок, после того как прежняя вода была удалена. Это проделывалось в течение трех недель. Спустя несколько недель можно было установить, что почки были заражены и содержали ооспоры. Чистая вода не вредит покоящимся почкам, что и показали контрольные опыты с чистой водой, которые продолжались также 7 недель.

Дальнейшие опыты с введением трехчасовой ежедневной паузы и паузы целого дня (воскресный день), в течение которых трубки оставались без воды, а равным образом и опыты, в которых рядом с почками помещали просто немного ваты, пропитанной водой с зооспорами и которую время от времени меняли, — все они

были успешны. Более старые побеги заражались в том случае, если их предварительно повреждали.

Опыты с зооспорами освещают ранее описанные опыты с корой, содержащей ооспоры, и ход заражения на воле в зараженной почве. Очевидно вследствие наличия влажности грибок образует зооспоры, которые вследствие химико-тактического воздействия на них соответствующих частей растения стремятся к нему и заражают его.

Дастюр (Dastur J. F., 1910) применял только что описанный метод с стеклянными трубками в несколько измененном виде на листовых черенках Ricinus communis для заражения его *Phytophthora parasitica.* Колемен (Coleman L. K., 1910) помещал орехи Arveca, больные фитофторой, в стакане с водой и вкладывал туда здоровые, предназначенные для заражения. Увлажняя почву, взятую из-под больного дерева, и помещая туда здоровые орехи, можно доказать присутствие заразного начала в почве, но при этом остается открытым вопрос — будут ли то ооспоры или нет.

Вторая *Phytophthora (Ph. erythroseptica),* живущая в картофеле, и именно в его клубнях, была описана Петибриджем (Pethybridge, 1913). Опыты искусственного заражения, которые подтвердили патогенность гриба, производились просто перенесением маленьких кусочков грибницы из чистых культур в ранки клубней, которые внешне предварительно были продезинфицированы. Для получения чистых культур больные клубни клали на несколько часов в слабые растворы сулемы или формальдегида, разрезывали пополам стерильным ножом и маленькие кусочки ткани переносили на соответствующую питательную среду.

Peronospora.

Род *Peronospora* обнимает многочисленные виды, которые паразитируют на различных растениях и являются возбудителями болезней многих культурных растений. Благодаря исследованиям де-Бари (1863) нам известен ход его развития. Существуют два рода органов размножения, которыми гриб размножается и заражает питающее растение; во-первых, древовидно-разветвленные конидиеносцы, которые выступают на пораженных частях растений в виде беловатой или слабо окрашенной плесени и на ветвях которых отчленяются конидии, и, во-вторых, ооспоры, которые образуются внутри пораженной ткани и развиваются только после некоторого периода покоя. Ооспоры известны не у всех

видов. Строго паразитический образ действия этих грибов проявляется в том, что конидии и ооспоры образуются на еще живых тканях хозяина и, в некоторых случаях, еще тем, что грибница сохраняется в зимующих органах и весной переходит из них в молодые побеги. В связи с их паразитическим питанием видов *Peronospora* до сих пор не удалось получить на искусственных средах.

Де-Бари (1863) путем опытов с искусственным заражением обнаружил причинную связь между грибом и болезнью. Число опытов, о которых он сообщает, незначительно; также скудны указания и относительно метода работы. Дальнейший ход развития органов размножения бывает различен. Относительно конидий де-Бари различает четыре случая.

1.—Из конидий, перенесенных в воду, так же, как у *Cystopus* и у *Phytophthora*, выходят зооспоры. Попадая на соответствующее место питающего растения, они прорастают при помощи ростковой трубки, которая, насколько имеются указания, проникает через устьице. Сюда принадлежат: *Peronospora viticola* на винограде, *P. nivea* на зонтичных и другие, которые вместе с видами следующей группы соединены в подрод *Plasmopara*.

2.—Из конидий выходит все содержимое в виде голой неподвижной плазмической массы. Проникание ростковой трубки происходит непосредственно через кожицу. Сюда принадлежат *P. pygmaea* на лютиковых, *P. densa* на Rhinanthaceae и др.

3.—Конидии дают из верхушки ростковую трубку, которая проникает непосредственно через кожицу. Подрод: *Bremia*. Сюда относятся: *P. gangliformis (Bremia lactucae)* на Lactuca и других сложноцветных.

4.—Ростковые трубки образуются сбоку; проникание, согласно данным, непосредственно через кожицу. Подрод *Peronospora*. Сюда принадлежит большинство видов, между прочим *P. parasitica* на крестоцветных, *P. effusa* на Chenopodiacae.

Приемы опытов нужно сообразовать со способами прорастания конидий. Во всех случаях, когда конидии прорастают с помощью ростковой трубки, для заражения подопытного растения надо переносить на листья растения самые конидии. С этой целью собирают в достаточном количестве растения, пораженные грибом, или их части, затем их помещают в стеклянную банку или в стакан, где и сохраняют во влажном, но не очень сыром и вполне спокойном воздухе для того, чтобы вызвать обильное развитие кони-

дий и самих конидиеносцев. Вслед за тем можно приступить к заражению. Для этого предназначенные для заражения части растения приводят в соприкосновение с растениями, пораженными грибом, или же стряхивают на них развившиеся конидии. Второй способ состоит в том, чтобы конидии перенести в воду, а отсюда при помощи кисточки перенести на предназначенные для заражения части или же с помощью пульверизатора равномерно распылить их по растению. Для того чтобы конидии проросли, растение оставляют в течение нескольких дней достаточно влажным под стеклянным колоколом. Однако следует наблюдать, чтобы растение от этой операции не пострадало, и для этого лучше всего держать их в простенке, где и производить наблюдения.

Таким же образом следует поступать с теми грибами из другой группы, у которых содержимое конидий хотя и выскальзывает, но не образует подвижных спор. Так как в этих случаях ростковые трубки проникают непосредственно через кожицу, то в общем равноценно — наносить ли конидии на верхнюю или на нижнюю часть листа, если листья будут в достаточно молодом возрасте.

Отдельные случаи требуют иного образа действия, как, например, *Peronospora radii*, конидиеносцы которой развиваются на лучистых цветках Tripleurospermum inodorum.

Таким же образом поступают с грибами, конидии которых в воде развивают зооспоры. Но в этих случаях повторными опрыскиваниями добиваются того, что конидии на растении располагают достаточным для образования зооспор количеством воды. Во многих случаях следует предпочтительно переносить конидии в воду, ждать образования здесь зооспор и только тогда переносить их на растение кисточкой или, смотря по условиям опыта, капиллярной трубочкой или пульверизатором. К помощи пульверизатора следует прибегать в тех случаях, когда листва трудно смачивается, но при его употреблении требуется наличие большего количества материала. В тех случаях, когда ростковые трубки проникают только через устьица, как это чаще всего бывает у видов подрода *Plasmopara*, заражение происходит только на листьях и поскольку споры попадут на нижнюю сторону.

Де-Бари производил свои опыты с *Peronospora* большею частью на срезанных листьях. В некоторых случаях ему удавалось сохранять листья свежими до тех пор, пока не образовались конидиеносцы. Предпочтительно работать с целыми растениями,

хотя бы ради предупреждения возражений, что гриб развивался на частях растения ослабленного и находящегося в особом состоянии предрасположения. Это необходимо и для того, чтобы можно было наблюдать полное развитие гриба вплоть до созревания ооспор на растущих частях зараженного растения. Де-Бари (1863) описывает следующие случаи, когда, высеивая конидии на срезанные листья, ему удавалось вызвать образование конидиеносцев: *Peronospora nivea* на Aegopodium podagraria; *P. densa* на Alectorolophus sp.; *P. parasitica* на Capsella bursa pastoris. Проникание ростковых трубок можно было устанавливать чаще всего уже спустя 1—2 дня, а образование конидиеносцев — спустя 6 дней. На Aegopodium podagraria это наблюдалось через 10 дней, но тогда, в одном случае, образовались также и споры.

Capsella bursa pastoris заражалась в экземплярах, растущих в горшках. Посев производился на прикорневые листья и на основание стебля. Спустя 6—8 дней на зараженных листьях появлялись конидиеносцы, а позднее и верхние части стебля вздулись и покрылись конидиеносцами. Грибница проникала в верхнюю часть стебля через нижнюю, которая оставалась без изменений или изменялась очень немного (де-Бари, 1863).

Опыт с *P. gangliformis (Bremia lactucae)* на Lactuca sativa ставился следующим образом. Семена были посеяны в чашку. Когда они начали прорастать, над ними помещали листья лактуки, покрытые конидиеносцами. Почву поддерживали влажной. Спустя 9 дней семядоли и молодые листья уже содержали грибницу и отчасти несли на себе конидиеносцы. *P. radii*, поражающая лучистые цветы Tripleurospermum inodorum, по де-Бари, развивалась только тогда, когда конидии высеивались на лучистые цветки; посев на листве не дал никакого результата. Но так как еще задолго до распускания цветов в стеблях и молодых головках уже встречается грибница, де-Бари считал желательным выяснить, не могут ли заражаться в этом случае семядоли и молодые всходы.

Дальнейшее развитие ооспор де-Бари (1866) удалось наблюдать только в одном случае у *Peronospora valerianellae*. Споры, созревшие в июне на Valerianella olitoria, были оставлены некоторое время сухими, а затем 23 июля выложены на сырую пропускную бумагу. Вскоре ткань листа сгнила, но прорастания ооспор не было. Тогда некоторое число ооспор отпрепарировали и оставили сохнуть на предметных стеклах. 20 октября их

опять смочили, и 1 ноября многие из них начали прорастать. В то время как на предметных стеклах проросшие ооспоры оставались без изменения, на листьях Valerianella, куда некоторые споры перенесли, ростковые трубки сильно выросли в длину и разветвились, но проникание в листья не было установлено.

Швейцер (J. Schweizer, 1919), дает следующие указания относительно своих опытов искусственного заражения с *Bremia lactucae* (*Peronospora gangliformis*). Подопытные растения за день до перенесения на них спор обильно поливали и переносили под стеклянный колокол. Благодаря этому испарение очень сильно понижалось, понижалась концентрация клеточного сока и повышалась возможность заражения. Собранные пораженные грибом растения также оставляли в течение 24 часов под стеклянным колоколом. В течение ночи развивались молодые конидии, которые были лучше всего способны к прорастанию, их-то снимали кисточкой и переносили на листья подопытного растения. В других случаях к нижней стороне предназначенных для заражения листьев прикрепляли маленькие кусочки пораженных листьев. Одновременно ставились опыты прорастания конидий в висячих каплях.

Зараженные растения остаются под колоколом 3—4 дня, и потом их постепенно приучают к сухому воздуху. Появление дерновинок гриба наблюдалось спустя 8 дней. Оказалось целесообразным через 20 дней обрезать все листья, оставить их 2 дня под колоколом, а затем их исследовать под микроскопом на присутствие грибницы. Проникание ростковых трубок происходит только через устьица. Новые опыты с *Peronospora* (*Plasmopara viticola*), которые подтверждают проникание ростковых трубок зооспор через устьица, описывает Г. Мюллер-Тюргау (H. Müller-Thürgau, 1912).

Растения, взятые для опыта, содержались в горшках в возможно естественных условиях воздуха и освещения, но ночью и во время дождя во избежание случайных инфекций их убирали. На каждом виноградном растении прививка производилась на двух побегах, у одного исключительно на верхней стороне листьев, у другого — на нижней. Место прививки обозначалось кружочком из туши; в середину каждого кружочка наносилась капля воды, содержащая зооспоры. Только прививки (заражения) на нижней стороне оказались успешными и дали свыше 50% а отчасти до 100% случаев. Проникание ростковой трубки происходит через устьица и в отдельных случаях наблюдается уже через 2—3 часа. С 4-го дня было замечено изменение окраски листьев, и с 6-го

при благоприятных условиях влажности, а при сухом воздухе только с 14-го появлялись конидиеносцы. Заражение ягод происходит, вероятно, через черешки. Заражение при помощи конидий не всегда легко удается. Летом 1914 года автор поручил д-ру Эсмарху (F. Esmarch) опылить конидиями 24 горшка различных крестоцветных и в их числе Capsella bursa pastoris. Конидии были получены от Capsella bursa pastoris и размешаны в воде. Растения после заражения содержали, как обыкновенно, под колоколом. Но желаемый результат не был получен. Одновременно поставленные опыты с получением чистых культур на различных питательных средах хотя и дали прорастание конидий, но дальнейшего развития ростковой трубки не было. В связи с этим интересным будет наблюдение П. Магнуса (P. Magnus), согласно которому *Peronospora parasitica* встречается предпочтительно на вздутиях, вызванных *Cystopus candidus*. То молодое состояние, которое сохраняет галловая ткань, по мнению Магнуса, служит, вероятно, объяснением указанного явления.

Также неудачные опыты искусственного заражения *Peronospora (Plasmopara)* описывает Вартенвейлер (Wartenweiler, 1918) и высказывает предположение, что употребляемая вода могла оказать неблагоприятное действие на прорастание конидий.

Bary A. de. Sur la formation des zoospores chez quelques champignons. Ann. sc. nat., (4) 13 (1860).

— Die gegenwärtig herrschende Kartoffelkrankheit, ihre Ursache und ihre Verhütung. Leipzig 1861.

— Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. Ann. des sc. nat., 4 sér., 20, 1863.

— Zur Kenntnis der Peronosporaceen. In de Bary und Woronin. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze. Abh. d. Sencken bergnaturf. Ges., 5 (1866).

— Zur Kenntnis der Peronosporaceen. Bot. Ztg., 39, 521 (1881).

Coleman L. C. Diseases of the Areca palm. Dep. of Agric. Mysore State. Mycol. series. Bull., № 2, Bangalore 1910.

Dastur J. F. On Phytophtora parasitica n. sp. Dep. of Agric. in India. Bot. ser. 5, № 4 (1913).

Eberhardt A. Contribution à l'étude de Cystopus candidus. Zentralbl. f. Bakt., (2) 12 (1904).

Eriksson J. Über den Ursprung des primären Ausbruches der Krautfäule u. m. g. Arch. f. Bot., 14, № 20 (1916).

Hartig R. Der Buchenkeimlingspilz. Unters. a. d. Forstbot. Inst., München, 1 (1880).

Hesse R. Pythium de Baryanum, ein endophytischer Schmarotzer etc. Halle 1874.

Klebahn H. Krankheiten des Flieders. Berlin 1909.

Magnus P. Das Auftreten der Peronospora parasitica. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 12 (1894).

Müller-Thürgau H. Die Bekämpfung der Peronospora viticola. Mitt. d. Deutsch. Weinbauvereins. 1912.

Mürray G. Notes on the inoculation of fisches with Saproleguia ferax. The Journ. of Botany, 23, 1885.

Nêmec B. Zur Kenntnis der niederen Pilze. VI. Eine neue Saprolegniacee. Bull. intern. de l'Acad. de sc. de Bohême, 18 (1893).

Peters L. Seitenwurzelerkrankungen der Futter- und Zuckerrüben. Ber. VI. Ueber d. Tät. d. Kais. Biol. Anstalt für Land- und Forstw., 1910.

— Untersuchungen über die Krankheiten der Rüben. Arb. d. Biol. Anstalt f. Land- und Forstw., 8 (1913).

— Über eine Keimlingskrankheit des Spinats. Ber. VIII. Ueber die Tät. d. Kais. Biol. Anstalt, 1912.

Pethybridge G. H. I. Considerations and experiments on the supposed infection of the potato Crop. etc. Scien. Proc. R. Dublin Soc., 13, № 2 (1911).

— II. On the rotting of potato tubers by a new species of Phytophthora. Scient. Proc. R. Dublin Soc., 13, № 35 (1913).

— III. On pure cultures of Phytophthora infestans etc. Scient. Proc. R. Dublin Soc., 13, № 36 (1913).

Sadebeck. Untersuchungen über Pythium equiseti. Beitr. z. Biol., 1, H. 3 (1875).

Schweizer J. Die kleinen Arten bei Bremia lactucae etc. Verh. d. Thurgaûisch. naturf. Ges., Heft 23 (1919).

Wartenweiler A. Beiträge zur Systematik und Biologie einiger Plasmopora-arten. Ann. mycol., 16 (1918).

3. Zygomycetae.

a) MUCORINAE.

Mucorinae — исключительно сапрофиты. Некоторые виды *Mucor* могут проникать в зрелые плоды и вызывать их гниение, как, например, *M. pyriformis* в плодах косточковых, *M. stolonifer* в яблоках, *M. racemosus* в сливах.

Искусственное заражение легче всего производить, перенося споры на поранения. Ввиду того, что все виды *Mucor* легко растут на питательных средах, иметь необходимый для прививки материал не представляет затруднений. Следует отметить, что некоторые виды рода *Mucor* оказываются патогенными для животных, а также и для человека. Некоторые были обнаружены при болезнях уха (Otomycose) именно *M. corymbifer, M. septatus*. Некоторые являются ядовитыми, иногда смертельными для мелких животных, поскольку споры вводились внутрь тела и особенно в кровеносные сосуды: так, *M. racemosus* патогенен для птиц, а

M. racemosus убивает кроликов в 36—60 часов. Особенно сильно бывают поражены и насквозь пронизаны грибницей почки (Плаут, 1902).

Некоторые *Mucorinae* (виды *Chaetocladium* и *Piptocephalis*) паразитируют на других *Mucorinae*. Брефельд (Brefeld, 1872) производил заражение следующим образом: он высеивал несколько спор *Chaetocladium* или конидий *Piptocephalis* вместе с одной спорой *Mucor'a* на предметное стекло и наблюдал их развитие под микроскопом.

b) ENTOMOPHTHORAE.

Entomophthorae развиваются в теле животных и их личинок, например домашней мухи, комаров, гусениц, листовых тлей, и убивают их. Из мертвых животных наружу выбиваются палисадообразные гифы, на концах которых возникают конидии. При созревании конидии отбрасываются. Осенью внутри животных образуются покоящиеся споры, и в этих случаях животные мумифицируются. Искусственное заражение комнатных мух *Empusa muscae*, по Брефельду (1877), удается, если перенести конидию на заднюю часть тела мухи. Ростковые трубки гриба проникают внутрь насекомого сквозь сегменты задней части тела, и, спустя приблизительно 8 дней, животное погибает, а гриб выступает наружу. Таким же образом Н. Сорокин (1877) заражал грибом *Entomophthora conglomerata* комаров (Culex pipiens), при чем он наносил споры также на заднюю часть тела и помещал здесь между сегментами. Однако автор находил, что с большим успехом он наносил споры в маленькие поранения, сделанные при помощи острой иглы. Брефельд (1877, 1881) заражал капустных гусениц, перенося их в воду, содержащую конидии или смачивая их этой водой. Гриб обнаруживал себя спустя 7 дней. Животных можно заражать и без искусственного перенесения спор, а просто помещать здоровых вместе с больными. Так, больную муху приклеивают ножками к стенке стеклянного сосуда в ее естественном положении и к моменту выбрасывания конидий пускают туда здоровых мух (Брефельд, 1870).

Г. Линдау (Lindau G., 1897) оставлял здоровых гусениц Porthesia chrysorrhoea вместе с пораженными *Empusa aulicae*, и болезнь быстро распространялась на здоровых. Но не удалось с уверенностью установить, как проникает заразное начало в тело — через

ротовые части или через кишечную стенку. В опытах с покоящимися спорами успешных результатов пока не получено. Ф. Кон (F. Cohn, 1875) добился положительного результата при опытах с заражением гусениц Agrotis segetum черными спорами *Tarichium megaspermum* (покоящиеся споры *Entomophthorae*, ср. Брефельд, 1881). Эти грибы пытались использовать для борьбы с вредными насекомыми. Для борьбы с листовыми тлями Г. ф. Лагерхейм (Lagerheim G. v., 1899) рекомендует держать растения, покрытые больными *Empusa* тлями, над водой с тем, чтобы выбрасываемые конидии падали в воду, и этой водой опрыскивать пораженные здоровыми тлями растения. Для борьбы с Tomaspis varia и Diatrea sacharalis, виновниками *blight*'а сахарного тростника, Рóрер (Rorer, 1913) рекомендует использовать *Metarrhizium* (*Entomophthora*) *anisopliae*. Это кажется обоснованным, так как этот гриб легко растет на искусственных средах, особенно содержащих крахмал, и в дождливое время, когда вредители особенно развиваются, легко заражает нимфы и imago.

Точно также Лакон (Lakon, 1915) предлагает для борьбы с с гусеницами совок собирать мумии, содержащие *Tarichium megaspermum*, растирать их с перегноем и этим порошком посыпать пораженные культуры (ср. Рострюп — 1906, Мюллер и Моргенталер — 1912). В этом случае заражение обусловливалось покоящимися спорами, прорастания которых на искусственных средах не удалось получить.

Brefeld O. Entwicklungsgeschichte der Empusa muscae und Empusa radicans. Bot. Ztg., 28 (1870).

— Untersuchungen über die Entwicklung der Empusa muscae und Empusa radicans. Abh. d. naturf. Ges., Halle., 12 (1871).

Brefeld O. Über die Entomophtoreen und ihre Verwandten. Bot. Ztg., 35 (1877).

— Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. 1 (Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze), Leipzig 1872, 4, Leipzig 1881.

Cohn F. Über eine neue Pilzkrankheit der Erdraupen. Beitr. z. Biol., 1, 58 (1875).

Lagerheim G. v. En svamp epidemie pä bladlöss etc. Entomol. Tidskr., 20, 127 (1899).

Lakon G. Zur Systematik der Entomophthoreengattung Tarichium. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., 25 (1915).

Müller und Morgenthaler. Schädigung von Rüben durch die graue Made. Deutsche Land. Presse, 39, 823 (1912).

Plaut H. C. Die Hyphenpilze oder Eumyceten. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Издано W. Kolle и A. Wassermann. Jena 1902.

Rorer J. B. The use of the genus muscardine in the control of some sugar cane pests. Phytopath., 3, 88 (1913).

Rostrup E. Oversigt over Landbrugplanternes. Sygdomme Tidsskr. for Landbrugets. Planteavl. 13 (1906).

Sorokin N. Über zwei neue Entomophthoraarten. Beitr. z. Biol., 2, 387 (1887).

B. ASCOMYCETAE.

1. Protascinae.

Protomycetaceae—низшие грибы, которые, может быть, скорее всего должны быть помещены между *Protascinae*, вызывают на питающих растениях образование сочных мозолеобразных галлов. В них на слабо развивающейся грибнице развиваются большие покоящиеся споры (хламидоспоры), покрытые плотной оболочкой. Дальнейшее их развитие впервые было описано де-Бари (1864) у *Protomyces macrosporus*. После зимнего покоя, когда ткани питающего растения достаточно выветрились, покоящиеся споры легко освобождаются. Для этого соответствующие части больного растения погружают в воду, где ткани их постепенно сгнивают и покоящиеся споры начинают прорастать. Содержимое их, одетое внутренней оболочкой, выскальзывает через трещину во внешней, и, в то время как этот шаровидный пузырь раздувается, его протоплазмическое содержимое распадается на многочисленные крошечные споры, которые, в конечном счете, выбрасываются с довольно большой силой. Споры эти копулируют попарно и могут потом заражать питающее растение. Де-Бари удалось еще в декабре вызвать прорастание покоящихся спор из материала, собранного в ноябре, уже после наступления зимних морозов.

Но лучше всего они прорастают весной. Первое прорастание можно наблюдать уже спустя 4 дня, но споры прорастают не одновременно, и часто можно в течение целых недель каждый день наблюдать новые случаи прорастания. Если покоящиеся споры находятся на влажной подстилке, то вновь образовавшиеся крошечные споры могут выбрасываться перпендикулярно в воздух на высоту до 1—2 *см*. Для того чтобы произвести искусственное заражение, де-Бари (1864) выращивал питающие растения в цветочных горшках и опрыскивал водой с прорастающими спорами верхнюю сторону листового черешка только что развившихся прикорневых листьев. Растения обильно поливали и несколько дней оставляли под стеклянным колоколом. Появление первых отчетливо заметных галл, по де-Бари, при его опытах,

производимых зимой или ранней весной, наблюдалось через $1\frac{1}{2}$—$2\frac{1}{2}$ месяца. Микроскопическое исследование обнаружило в паростах присутствие грибницы, на которой позднее образовались споры. Проникание ростковой трубки происходит непосредственно через кожицу и, повидимому, между стенок клеток.

Так как покоящиеся споры (Dauersporen — хламидоспоры) освобождаются вследствие стирания окружающей их ткани, то получить их чистыми в большом количестве не удалось. Напротив, споры легко получить чистыми. Для этого Б. Мейер и Г. фон Бюрен (B. Meyer—1888, G. v. Büren — 1915) переносили перезимовавшие покоящиеся споры на влажную фильтровальную бумагу и на незначительном расстоянии над ними (в 2—3 *мм*) помещали предметные стекла с висячими каплями питательного раствора. Споры выбрасывались и попадали в питательную жидкость. Здесь они прорастали и образовывали почкующиеся колонии, но грибница не развивалась. Споры, полученные таким образом, могут служить для опытов. Для этого капли этой жидкости переносят капиллярной трубкой, непосредственно с покровного стекла или предварительно разболтав их в воде, на молодые находящиеся в стадии развития органы питающего растения, которые затем держат несколько дней под стеклянным колоколом. Этот способ очень сложен, может быть даже не очень надежен и, во всяком случае, непригоден для выяснения отношения к грибу многих питающих растений. Чтобы изучить развитие покоящихся спор с предварительной заливкой их в парафин, Бюрен употреблял как субстрат для проращивания спор тонкие срезы из бузины. Может быть было бы возможно употреблять срезы бузины также и при опытах искусственного заражения, нанося на них покоящиеся споры и прикрепляя их над подопытным растением. В этом случае растения были бы обсыпаны выброшенными маленькими спорами.

Опыты искусственного заражения в широком масштабе Бюрен ставил следующим образом: части растений, пораженные грибом, сохраняли в маленьких мешочках, подвешивая их на высоте 30 *см* над землею на воле, в тенистом месте. В начале апреля, для предохранения от дождя, их переносили под крышу. Перед опытом материал с содержащимися в нем спорами несколько часов размачивали в воде, потом размельчали и взбалтывали с водой. Затем жидкость с освободившимися спорами наносили на растения и оставляли дня 4—5 под стеклянным колоколом. Чтобы

производить опыты в условиях, более близких к естественным, Бюрен (1915) поступал следующим образом. Подопытные растения высеивались в деревянные ящички. Для каждого из них вкладывали картонное кольцо 3—4 *см* в диаметре и расстояние между отдельными кольцами заполняли землей. Растения высеивали по одному в кольцо. Сюда же помещали больные части растения, содержащие споры. Чтобы поддерживать равномерную влажность, все покрывали толстым слоем моха (2 *см* толщины), а для предохранения от ветра и животных сверху затягивали марлей. Засеянные ящички оставляли на воле в условиях, более всего соответствующих естественным условиям роста питающего растения и гриба. Результат оправдал ожидания. Соответствующие питающие растения были обильно заражены, и цикл гриба мог быть точно установлен.

По Бюрену (1917), случается, что семена питающего растения, Apium nodiflorum, содержат покоящиеся споры *Protomyces inundatus*. В таких случаях заражение растений происходит во время прорастания семян и осуществляется без постороннего содействия.

Bary A. de. Protomyces u. Physoderma. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze. Abh. der Senckenberg. naturf. Ges., 5 (1864).

Büren G. v. Die schweizerischen Protomycetaceen etc. Beitr. zur Kryptogamenflora der Schweiz, 5 (1915). Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Protomyces inundatus. Mitt. d. naturf. Ges. in Bern, 1917.

Meyer B. Untersuchungen über die Entwicklung einiger parasitischen Pilze bei saprophytischer Ernährung. Landw. Jahrb, 17 (1888).

2. Plectascinae.

Aspergillaceae — роды *Aspergillus* и *Penicillium* — почти исключительно сапрофиты. *Penicillium* может переходить (иногда) с мертвых тканей на ослабленные и вызывать процессы гниения. Иногда он является причиной загнивания фруктов или же сопутствует гниению, как, например, при кольцевой гнили гиацинтов.

Опыты не представляют затруднений, так как эти грибы растут большею частью на всяких органических средах и обильно образуют конидии. Для заражения конидии вводят в ранки. Эти опыты на-ряду с другими описывает Шнейдер-Орелли (Schneider-Orelli, 1908). Плоды перед заражением стерилизовали наружно 1% раствором сулемы; грибы же брались из чистых культур. Результат заражения зависит не только от сорта плодов или гриба, но тоже и от состояния плода. Между *Aspergillaceae*, как

и между *Mucorinae*, есть целый ряд видов, патогенных для животных и человека. *Aspergillus fumigatus* является возбудителем болезней, очень схожих с туберкулезом легких (псевдотуберкулез, пневмономикоз). Эти болезни встречаются у голубей и у людей, работающих в условиях, при которых споры плесневых грибов сильно поднимаются в воздух. Еще не установлено, может ли плесень быть первопричиной болезни. Тем не менее Шютц (Schütz, 1884)) вызывал у маленьких голубей смертельное воспаление легких, помещая их на некоторое время в сосудах, в которых были распылены споры патогенных плесеней. Птицы заболевали после 15-минутного пребывания в сосудах и умирали спустя 2—3 дня. Целый ряд видов *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *niger* и др.) и один вид *Penicillium* (*P. minimum*) были обнаружены при болезнях уха (Otomycose) (Зибенман—Siebenmann, 1883); далее плесневые грибы были найдены частью у людей, частью у животных в носовой и примыкающих полостях, в роговой оболочке глаза, в желудке и т. д. Чаще других встречается *A. fumigatus*.

Впрыскивание спор обыкновенных плесневых грибов в сосудистую систему даже в большом количестве остается без последствий, между тем как введение спор патогенных грибов уже спустя несколько дней вызывает смерть.

Различные животные обнаруживают различную степень восприимчивости (ср. Плаут, 1902).

Точно также и *Thielavia basicola* является по существу сапрофитом и только при определенных условиях становится вредителем. Адерхольд (Aderhold, 1905) пытался вызвать заболевание, нанося конидии на корни лупина и бобов, но результаты получились слабые.

Опыты с „оленьими трюфелями“ — *Elaphomyces*, паразитирующими на корнях сосны, были безуспешны (ср. Рисс — 1885, Рисс и Фиш — 1887).

Aderhold R. Impfversuche mit Thielavia basicola. Arb. a. d. Biol. Anstalt f. Land- und Forstw., 4 (1905).

Plant H. C. Die Hyphenpilze oder Eumyceten. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Изд. W. Kolle и A. Wassermann. Jena 1902.

Reess M. Über Elaphomyces und sonstige Wurzelpilze. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 3 (1885).

Reess M. und Fisch C. Untersuchungen über Bau und Lebensgeschichte der Hirschtrüffel, Elaphomyces. Bibl. bot., 2, № 7 (1887).

Schneider-Oselli O. Über Penicillium italicum Wehmer und Penicillium glaucum Link als Fruchtparasiten. Zentralbl. für Bakt., (2) 21 (1908).

Schütz. Über das Eindringen von Pilzsporen in die Atmungswege ets. Mitt. a. d. Kais. Gesundh.-Amt, 1884.

Siebenmann F. Die Fadenpilze Aspergillus flavus und ihre Beziehungen zur Otomycosis aspergillina. Inaug. — Diss., Wiesbaden 1883. См. то же Zeitschr. f. Ohrenhlk., 12 (1883) и позднейшие работы.

3. Perisparinae.

a) ERYSIPHACEAE.

Мучнисторосяные (*Erysiphaceae*) образуют группу тесно приспособившихся и очень опасных паразитов. Грибница большею частью живет совсем поверхностно на эпидерме, отсылая внутрь клеток свои гаустории. Известны исключения. Сохраняются и размножаются мучнисторосяные двояким способом — во-первых, при помощи конидий, которые возникают на грибнице цепочками и способны тотчас же прорастать, и, во-вторых, перитециями, в которых обычно после некоторого периода покоя образуются сумки с их спорами.

Конидии можно легко переносить с пораженных листьев на здоровые, приводя их в соприкосновение или стряхивая конидии с первых на вторые. Можно также стряхнуть споры в воду кисточкой и перенести на подопытное растение при помощи пульверизатора. Конидии легко прорастают, особенно если выдержать подопытное растение несколько дней под стеклянным колоколом. Де-Бари (1870) описывает их прорастание следующим образом. Ростковая трубка вытягивается, достигает двойной длины конидии и образует тотчас же позади своей верхушки гаусторий. Когда гаусторий проникнет в клетку хозяина, ростковая трубка растет дальше, и тогда гаустории могут возникать и на других местах конидии. Если конидия попадает на кожицу несоответствующего растения, ростковая трубка отмирает.

Ростковые трубки, по указанию де-Бари, можно легко наблюдать в большом количестве на любом листе, пораженном мучнистой росой, и поэтому опытные посевы производились редко.

Более поздние авторы, которые ставили опыты для выяснения степени восприимчивости и специализации форм, сообщают следующие данные относительно методов заражения. Ф. Негер (Neger F., 1902) еще весной выращивал в горшках большое число соответствующих растений-хозяев, чтобы потом работать с растениями, абсолютно чистыми от грибов. Растение, предназначенное

для опыта, он предварительно опрыскивал водой и затем высеивал споры, разрывая над смоченным растением на мелкие части больные листья. При этом отделялись целые облака конидий, которые в совершенно спокойном воздухе очень равномерно распределялись на различных частях подопытных растений, иногда неодинаково восприимчивых. Простое стряхивание конидий не дает такого результата. Нецелесообразно переносить на листья большие комки конидий, так как на них легко могут появиться плесени, которые при некоторых условиях задерживают заражение, и еще потому, что полученный результат будет решать вопрос о восприимчивости лишь данного места.

Чтобы быть вполне уверенным в чистоте употребляемого для заражения материала, лучше всего пользоваться грибами, выращенными в лаборатории. Всхожесть конидий проверяется, одновременно с опытами, во влажных камерах. Это необходимо, так как, повидимому, сила всхожести подвержена колебаниям, и случайно заражение может не удасться на восприимчивых растениях. Чтобы исключить возможность ошибок, причиной которых может быть различная восприимчивость различных стадий развития подопытного растения, Негер (1902) рекомендует оба растения — и поражаемое грибом и подвергающееся испытанию — культивировать в одном горшке под одним колоколом. При этом различными мерами — частым проветриванием колокола, высасыванием воздуха из колокола — можно избежать развития плесени на подопытных растениях. Если и при этом условии поражаемое растение будет продолжать заражаться, в то время как другое останется здоровым и будет нормально развиваться, то достаточно 3—4 недель опыта, чтобы с уверенностью решить, что гриб с одного растения на другое не переходит. Негер высказывает мнение, что при мучнисторосяных болезнях очень значительную роль играет индивидуальная склонность, а возможно и расовое предрасположение.

Э. Сальмон (Salmon E. S.), автор многих опытов искусственного заражения с мучнисторосяными, сравнительные опыты с *Erysiphe graminis* ставил следующим образом (1903). В теплице в горшках проращивали семена различных трав и заражение производили над 6—31-дневными проростками. Растения, находящиеся в горшках (из которых каждый содержал 10—20 сеянцев), были разделены дощечкою на 2 части. Одна половина растений или одна часть их заражалась, другая служила контрольной. Листья перед при-

вивкой предварительно легко растирали пальцами, смоченными в дестиллированной воде, для того, чтобы сделать поверхность влажной, и скальпелем на нее наносили конидии. Оставшиеся на скальпеле конидии смывали водой в часовое стеклышко и их испытывали на прорастание. Горшки ставили на северное окно в лаборатории и покрывали стаканами, выложенными внутри влажной фильтровальной бумагой. Спустя 48 часов воздух в стаканах проветривали, подставляя под края стакана деревянные шашки, а спустя еще 24 часа стаканы удаляли совсем. Во многих случаях заражали по два горшка и один из них просто выставляли на волю у северной стены и здесь предоставляли воздействию погоды. Посев конидий на действительного хозяина гриба давал всегда хороший результат. Что же касается растений, выставленных на воле, то было установлено, что дождь часто смывал нанесенные конидии. В зависимости от погоды первые конидиальные цепочки появлялись спустя 3—4 дня.

Для выяснения вопроса, влияют ли внешние факторы на восприимчивость, Сальмон (IV, 1904) поставил ряд интересных опытов. На листьях испытываемых растений вырезывались бритвой маленькие пластинки так, чтобы кожица с одной стороны листа и часть мезофилла, а иногда даже бо́льшая часть его, были удалены. На неповрежденную кожицу листа, против срезанного места, наносили конидии. Потом этот лист пораненной поверхностью клали на мокрую фильтровальную бумагу в закрытую чашку Петри Развитие конидий на тонко срезанных местах можно было наблюдать непосредственно под микроскопом. Оказалось, что здесь в некоторых случаях развивались конидии тех биологических форм мучнисторосяных, которые не могли бы заразить неповрежденные листья. Как пример можно указать *Erysiphe graminis*, паразитирующего на пшенице и который не давал положительных результатов на ячмене. Но когда листья ячменя были повреждены вышеописанным образом, заражение произошло, и в течение 6—8 дней образовались конидиеносцы со зрелыми конидиями.

Таким же образом устойчивые против мучнисторосяных Triticum monococcum и Tr. dicoccum сделались восприимчивыми против *Erysiphe graminis*, живущего на пшенице и на ячмене. Конидии, полученные при такого рода опытах со срезанными листьями, оказались при дальнейших испытаниях способными прорастать и вызывать в свою очередь заражение на неповрежденных листьях того же растения (Сальмон, IV, 1904), так что здесь гриб

благодаря известным приемам как бы приобретает способность заражать новых хозяев. Обрезывание листьев, как показали параллельные опыты с обрезанными и необрезанными листьями, не влияют на результаты (Сальмон, IV, 1904). Листья остаются свежими достаточно долго для того, чтобы произвести опыт, а это важно потому, что пользоваться срезанными листьями значительно легче.

Сальмон (V, 1905) вызывал восприимчивость растений к поражению мучнисторосяными также при помощи других воздействий; так, на поранениях, вызванных уколом иглы, высверливанием, укусом гусениц или каким-либо иным образом, поврежденные клетки, поскольку они не отмерли, делаются восприимчивыми против чуждой для них формы гриба. Далее автор применял воздействие паров эфира в течение $1^1/_2$—2 минут, паров спирта — 3 минут, погружение в $19^0/_0$ смесь спирта и воды, погружение в воду при 50^0 в течение одной минуты, медленное подогревание воды до 50^0. Во всех этих случаях создается более или менее сильная восприимчивость по отношению к родственным, не специализировавшимся формам мучнисторосяных. Но следует отметить, что конидии, выросшие на подготовленных таким образом листьях, не сохраняли способности заражать здоровые листья неприспособившихся растений.

Посевы, производимые на поранениях, нанесенных бритвой, следовательно или на клетках мезофилла или на внутренней стороне кожицы, были успешны и показали у *Erysiphe graminis* способность развиваться до некоторой степени эндофитически. (Сальмон, VII, 1902).

Опыты искусственного заражения с аскоспорами более затруднительны, так как эти споры прорастают лишь после некоторого периода покоя, после перезимовывания в перитециях; кроме того их имеется не так много и с ними не так удобно работать, как с конидиями. Сальмон (I, 1903) описывает следующие методы: собранные осенью листья с перитециями (*Erysiphe graminis* — форма ячменя) он сохранял в течение зимы сухими в ящичке. В марте он переносил их в чашки Петри, выложенные влажной фильтровальной бумагой, и держал при 18^0. В этих условиях аскоспоры немедленно начинали развиваться и созревали в течение 3—5 дней. Сальмон (1903) установил, что перитеции вскрываются экваториальной щелью и аскоспоры выбрасываются из сумок на высоту 2 *см*. У *Erysiphe graminis* они даже

не нуждаются в покое, и созревшие в июне перитеции можно было таким образом заставить выбросить споры немедленно (Сальмон, III, 1904). Выбрасывание спор было использовано в целях искусственного заражения. В одной части опытов отобрали на предметное стекло около 100 растрескавшихся перитециев, раздавили их и воду, содержащую споры, перенесли на растение, листья которого заранее были подготовлены путем мягкого растирания их между пальцами, смоченными в стерильной воде. Растения, как обычно покрытые колоколом, помещали в теплицу. Спустя 24 часа колокола проветривались и по истечении еще 24 или 48 часов удалялись совсем (Сальмон, I, 1903). При других опытах листья с перитециями помещали на влажную фильтровальную бумагу, а над ними помещали на небольшом расстоянии (может быть 1 *см* или менее) покровные стеклышки с висячими каплями. Таким образом выброшенные споры попадали в висячие капли, и с этими каплями их можно было переносить (Сальмон, III, 1904). Этот метод можно изменить так, чтобы выбрасываемые споры попадали непосредственно на подопытное растение. Больные листья помещали на влажной фильтровальной бумаге стороной, несущей перитеции, кверху; затем листья вместе с фильтровальной бумагой перевертывали и помещали на сетке над подопытными растениями. Выбрасывание спор контролируется при помощи маленьких покровных стеклышек, которые помещают на листья подопытного растения. При известной предосторожности опасность занесения на опытные растения спор других грибов сама по себе не очень велика. Сапрофиты, которые попреимуществу встречаются в этих случаях, существенно не вредят, а случайных паразитов легко можно узнать по полученному результату. Еще другой указанный Сальмоном (VI, 1905) метод состоит в том, что предназначенные для прививки листья оставляют в течение 48 часов на листьях с перитециями. После выбрасывания спор листья переносят во влажные чашки Петри. Этим путем получали очень сильные заражения.

Штейнер (Steiner A., 1908) оставлял перезимовывать собранные осенью перитеции на воле в маленьких сетчатых мешочках, и этот материал весной с успехом употреблялся для заражения. В своих опытах автор помещал на листья подопытного растения маленькие кусочки листьев с перитециями (очевидно, пропитанные водой, но относительно этого нет указаний) и покрывал на 2—3 дня стеклянным колоколом, выложенным внутри влажной филь-

тровальной бумагой, если же опыты ставились со срезанными листьями, то их помещали во влажную чашку Петри. При заражениях конидиями пользовались почти исключительно срезанными листьями, которые помещали в чашках Петри. Чашки Петри перед каждым опытом стерилизовали и снабжали свежей фильтровальной бумагой. Листья, на которых имелся нужный гриб, разрывали на маленькие кусочки, эти кусочки тщательно взбалтывали в колбочке с водой и жидкость, содержащую конидии, наносили кисточкой на листья в форме самых простых фигур, чтобы установить связь между прививкой и развитием мучнистой росы и с возможной достоверностью отличить постороннюю инфекцию. Работы со срезанными листьями были признаны вполне достаточными, так как результаты получались уже спустя 4—7 дней, между тем как листья сохраняли свежесть 10—20 дней; работа с молодыми саженцами, по замечанию Штейнера, представляет затруднения. Слабые положительные результаты заражения, поскольку поражение наблюдалось также и на контрольных листах, рассматривались как подозрительные. Принимался во внимание также и возраст листьев, так как восприимчивость их меняется с возрастом.

Рид (Reed G. M., 1907, 1909), работая над мучнистой росой огурцов, злаков и т. д., производил свои опыты с прорастающими растениями в 2,5—5-дюймовых цветочных горшках, которые после заражения ставили под проветриваемые стеклянные колокола.

Горшки снабжались поддонками, в которые по мере надобности подливалась вода. Заражался первый зеленый лист. Место прививки предварительно смачивали водой и конидии переносили с помощью скальпеля. Чтобы иметь в распоряжении достаточное количество конидий, растения, с которых снимались конидии, помещали перед тем на 1—2 дня под стеклянный колокол. Одновременно с испытываемыми подопытными растениями прививка делалась также растениям того вида, с которого брались конидии, чтобы, судя по их заражению, быть уверенным в способности конидий прорастать и производить заражение.

Bary A. de und Woronin M. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze. Abh. d. Senckenberg. naturf. Ges., 7 (1870), 1864—1870.

Neger F. Beiträge zur Biologie der Erysipheen-Flora. 90 (1902).

Reed G. M. Infection experiments with the mildew on cucurbits Transact. Of the Wisconsin Acad. of Sciences, Arts and Letters., 15 (1907).

Salmon E. S. I. Infection powers of ascospores in Erysiphaceae. Journ. of Bot., 41 (1903).

— II. On specialisation of parasitism in Erysiphaceae. Beih. z. Bot. Zentralbl. 14 (1903).

— III. Mycological Notes. Journ. of Bot., 42 (1904).

— IV. Culture experiments with „biologic forms“ of the Erysiphaceae („э“). Phil. Transact. of the Royal Soc. of London. Ser. B., 197 (1904).

— V. Further cultural experiments. Ann. of Bot., 19 (1905).

— VI. On specialisation of parasitism in the Erysiphaceae. Ann. Mycol., (1905).

— VII. On endophytic adaptation. Phil. Transact. R. Soc. London. Ser. B., 198 (1905).

Steiner J. A. Die Spezialisation der Alchimillen bewohnenden Sphaerotheca humuli. (D. C.) Burr. Zentralbl. f. Bakt., (2) 21 (1908).

b) PERISPORIACEAE. MICROTHYRIACEAE.

Род *Apiosporium* и родственные ему *Perisporiaceae* вместе с конидиальной формой *Fumago* ставят в связь с грибами, обусловливающими на зеленых частях растений так называемую черную росу. Доказательств этой связи нет. Относительно искусственного заражения следует смотреть в главе о грибах, вызывающих „чернь“, в *Fungi imperfecti*.

4. Pyrenomycetae.

a) HYPOCREACEAE.

Nectria.

Виды рода *Nectria* живут в коре и древесине различных деревьев. Они убивают пораженные ткани, в частности камбий, и вызывают отмирание целых побегов или появление односторонних, часто остающихся открытыми и окруженных разрастающейся тканью ран (рак). По существу они кажутся паразитами и поселяются лишь на свежих поранениях или на отмерших частях, но необходимо еще выяснить — поражают ли они здоровую ткань, или же выделяемыми ядами они предварительно ослабляют клетки и только потом проникают в подготовленную ткань. *Nectria* образует сначала бесцветные конидии, иногда двоякого рода: большие многоклеточные и маленькие одноклеточные, которые могут быть связаны друг с другом переходными формами, и двуклеточные аскоспоры, которые возникают в круглых ярко окрашенных, часто в красный цвет, перитециях.

Nectria cucurbitula, согласно Гартигу (1880), является причиной болезни сосен, елей или пихт, при чем не только кора, но иногда и вся часть ствола, находящаяся над больным местом,

отмирает (засыхание верхушки). „Достаточно, — пишет Гартиг на основании своих опытов, — надрезать концом скальпеля кору и ввести туда хотя бы одну способную прорасти спору или конидию, чтобы в скором времени началась сильно и быстро поражающая кору болезнь". Можно также срезать верхушку ветви или ствола и посеять споры на поверхность среза. Хотя споры и покрываются выступающей наружу смолой, но тем не менее прорастают и даже образуют конидии. „На поверхности среза разрастается грибница: она развивается снизу и врастает предпочтительно в ситовидные трубки луба. Ткань коры отмирает и буреет: вскоре, в зависимости от того, насколько глубоко паразит проник внутрь, отмирают и опадают иглы". Едва ли нужно говорить, что при контрольных опытах производили также поранения без заражения, но они очень скоро зарубцовывались, если же следствием поранения было отмирание, то не свыше, как на 1 *мм*, между тем как зараженные побеги в отдельных случаях уже спустя 4 недели отмирали на 6—8 *см*. В естественных условиях повреждения от града и поранения от короеда, Graptolitha pactolana, облегчают грибу проникнуть вглубь. „На комнатных растениях в горшках, зараженных в начале марта, уже спустя 14 дней после заражения, появились на коре белые конидиальные подушечки. Четыре недели спустя можно было различить красную окраску плодового ложа и начало образования перитециев. Через восемь недель после заражения растения погибли, но перитеции еще не достигли нормальной величины. В других случаях, и особенно когда зараженные растения в сухом комнатном воздухе, очевидно, страдали от недостатка влаги, развитие паразита в коре шло гораздо медленнее, и только спустя 4 недели после прививки вблизи места заражения появились первые конидиальные подушечки".

Nectria galligena, до сих пор ошибочно называемый *N. ditissima*, является причиной рака лиственных деревьев — в частности яблони, бука и т. д. Окружающий рану камбий стремится покрыть пораненное место, но проникающая в новую ткань грибница препятствует этому, и процесс нарастания начинается вновь. Таким образом в конечном счете открытое поранение бывает окружено рядом наростов, образовавшихся вследствие разрастания камбия и сильного роста в толщину прилегающих к ране частей ствола благодаря тому, что запасные питательные вещества задерживаются здесь. По Гартигу (1880), болезнь берет свое начало в месте поранения. Во многих случаях проникание гриба

облегчают повреждения от града или укусы насекомых, трещины у основания малых или больших побегов и в углу при разветвлениях. У рака яблони автор находил, почти как правило, в середине раковой опухоли остатки небольшого начального побега. Искусственное заражение красного бука Гартиг (1880) производил при помощи аскоспор, конидий и кусочков коры, содержащих грибницу. Применяемый метод был, вероятно, сходен с тем, который применялся в опытах с *Nectria cucurbitula* и *Dasyscypha Willkommii*. Автор отмечает, что следствием заражения являлось почернение коры, и болезнь в течение года распространялась вдоль побега не больше, как на 1 *см*. Далее, он считает установленным, что большее содержание воды в древесине благоприятствует развитию гриба, более низкое — задерживает. Произведенные в мае опыты не удались, по мнению Гартига, вероятно, вследствие того, что свежая листва требует наличия в древесине большего количества воды; между тем опыты в конце сентября и начале октября оказались успешными.

Противоположное мнение отстаивает Мюнх (Münch, 1906). Заражая срезанные ветви Fagus silkatica и Ulmus montana конидиями, взятыми из чистых культур на хлебе, путем перенесения их на поверхность среза, автор обнаружил иммунность у свеже срезанных побегов с большим содержанием воды и, напротив, при пониженном содержании воды — повышенную восприимчивость. Чтобы вызвать ее, свеже срезанные ветви подсушивали некоторое более или менее продолжительное время. На таких побегах после заражения появлялись в большом количестве конидиальные ложа и перитеции.

Гартиг (1880) пытался заражать также зеленые листья, опрыскивая их водой со спорами или конидиями. В результате возникали бурые пятна величиной с горошину. Мюнх (1909) повторил эти опыты и нашел, что у листьев отмирание начинается от жилок и что отмирали даже молодые травянистые и однолетние опробковевшие побеги. На всех отмерших частях появлялись конидии и часто даже перитеции. Согласно данным Гете (Goethe, 1880) и Лапина (Lapine, 1892), ростковые трубки могут проникать в неповрежденную кору через чечевички и почки (июнь, июль). Вследствие этого *Nectria galligena* носит характер настоящего паразита. Устойчивость насыщенных водой побегов являлась следствием неспособности гриба жить в ткани, бедной воздухом, а не результатом настоящего иммунитета.

Обычная *Nectria cinnabarina* является, повидимому, во многих случаях простым сапрофитом. Но поскольку она, как таковой, развивается на каком-нибудь живом дереве, при известных условиях она может погубить целые ветви. Не выяснено, насколько она при этом приобретает паразитический характер. По Мюнху (1909), содержание воздуха, обусловленное наличием воды, является решающим фактором того, внедряется ли гриб в дерево или нет. Срезанные побеги Ulmus montana Aesculus hippocastanum, Fagus siliatica с различным содержанием влаги заражались конидиями из чистых культур, и в результате оказалось, что только более или менее обсушенные куски ветвей были убиты грибом. Было отмечено одно интересное исключение: на одной стоящей в воде ветви кора была поражена на протяжении 12 *см*. Из этого можно вывести заключение, что результат заражения, кроме содержания воды, обусловливается и другими факторами.

Calonectria, Hypomyces, Melanospora, Gibberella.

Calonectria nivalis рассматривается как сумчатая форма снежной плесени злаков — *Fusarium nivale*. Опыты искусственного заражения сконидиями этого гриба и конидиями родственных видов (*Fusarium metachroum, subulatum* и т. д.) были поставлены Шафнитом (Schaffnit, 1912). Для заражения предполагается наличие ослабленного состояния растения, которое Шафнит осуществлял тем, что выращивал подопытные растения (рожь) в синем свете под саксовским колоколом. Гриб прививали, поливая растения через ситечко водой с конидиями, или же внося в поранения конидии при помощи иглы, а также грибницей из чистых культур, или, наконец, путем контакта здоровых растений с больными.

Очень мало известно относительно искусственного заражения у родов *Hypomyces, Melanospora, Gibberella,* отдельные виды которых живут паразитически. Целый ряд видов *Hypomyces* живет на плодовых телах шляпочных грибов. *Melanospora damnosa* вызывает болезнь злаков и, согласно данным Берлезе (Berlese, 1897), может переходить на соседние растения, поскольку больные побеги втыкают в землю рядом со здоровыми; посев конидий не дает результата. *Gibberella saubinetii* встречается на чешуйках и зернах разных злаков. Так как с этими грибами едва ли были

поставлены опыты, то можно ограничиться вышеприведенными указаниями.

Относительно же *Fusarium*, принадлежность которого к *Hypocreaceae* не признана, речь будет в *Fungi imperfecti*.

Polystigma. Epichloë.

Polystigma rubrum образует на листьях слив и терновника (Prunus spinosa) яркокрасные пятна до 1 *см* величины. На опавших листьях пятна эти развиваются в довольно толстую строму (stroma), в которой весной образуются сумчатые плодоношения. Заражение можно произвести очень легко, если больные перезимовавшие листья, достаточно смоченные, разложить на сетке над молодым сливовым деревцем, листва которого только что распустилась; споры выбрасываются сами собой. Франк (Frank), сообщая данные относительно этого гриба, не указывает выбрасывания спор. На красных пятнах летом возникают спермогонии, содержащие нитевидные конидии, но которые при заражении, кажется, не играют роли. С чехловидной болезнью злаков, *Epichloë typhina*, до сих пор опыты не производились.

Claviceps.

Из бурых роговидных склероциев, известных под имелем рожков, или спорыньи, которые появляются на месте зерен в зрелых колосьях ржи и других злаков, после периода зимнего покоя образуются шаровидные плодовые тела на ножках, которые содержат перитеции гриба. Они выбрасывают свои мелкие нитевидные споры, разносимые ветром, в то время, когда рожь и другие злаки цветут; споры попадают на завязи злаков и заражают их.

Чтобы произвести заражение искусственно, следует собрать склероции осенью [склероции *Claviceps purpurea* можно также приобрести в аптеке (secale cornutum)]. Затем наполняют несколько цветочных горшков землею, насыпают сверху просеянного песку, укладывают в нем склероции, засыпают сверху песком и оставляют перезимовывать на воле. Поверхность песка должна быть по крайней мере на 1 *см* ниже края горшка, чтобы песок и спорынья не были смыты дождем. Незадолго до того как зацветает рожь и другие питающие спорынью растения, горшки вносят в помещение и время от времени поливают. К этому времени головки *Claviceps* начинают выходить из песка. Их развитие можно искусственно задержать, сохраняя их сухими, или ускорить,

предоставляя им влажность и тепло, и таким образом иметь их всегда готовыми к моменту опыта. Развитие плодовых тел и созревание их спор происходит у этого гриба независимо от зимних холодов, хотя последние играют при развитии гриба регулирующую, т.-е. задерживающую, роль. Можно добиться развития плодовых тел в период между февралем и апрелем, если горшки со спорыньей держать не на воле, а в комнате попеременно то сухими, то влажными или же класть их время от времени на несколько дней в воду, а затем опять высушивать (Клебан, 1918).

Проще всего предоставить заражение естественным факторам. Для этого покрытый стеклянной пластинкой горшок с развившимися плодовыми телами *Claviceps* помещают между цветущими колосьями ржи или других питающих растений. Если снять стеклянную пластинку и споры будут выброшены, то часть их попадет на рыльца и завязи цветов. Если же подопытные растения выращивались в горшках, то лучше всего, положив растения горизонтально, прикрепить соцветия над горшком, в котором плодовые тела *Claviceps* достигли полного развития и который до начала опыта держали закрытым. Если рожков достаточно, споры легко и в достаточной степени попадают на цветы, и опыт в короткое время может быть закончен; на покровных стеклышках, положенных на соцветиях, можно убедиться, достаточно ли было выброшено спор. Автор производил опыты таким именно образом. Другой способ состоит в том, что освободившиеся споры размешанные в воде, кисточкой наносят на отдельные цветы или же при помощи пульверизатора распыляют по всему соцветию.

В результате заражения появляется конидиальная форма гриба, известная у *Claviceps purpurea* под именем *Sphacelia segetum*, которая поражает завязи и в углублениях последней образует крошечные конидии. Они выделяют капельки сладкой жидкости, выступающие между чешуями, и таким путем становится известно, что заражение произошло. В природе эти капельки прилипают к насекомым, и последние таким образом переносят конидии на другие цветы и заражают их. Для искусственного заражения эту сладкую жидкость снимают мягкой кисточкой и переносят ее на завязи цветущих растений. В результате этого сперва появляется *Sphacelia*, а позже, как и при опытах с аскоспорами, склероции.

Штегер (Stäger, 1903, 1907), при своих многочисленных сравнительных опытах, употреблял для первых заражений размешанные в воде аскоспоры, а для позднейших — конидии. Для зара-

жения цветущие колосья или метелки погружались в воду со спорами или опрыскивались из пульверизатора. Автор не указывает, каким путем получались споры из перитециев. Возможно, что во избежание потерь, которые бывают при самовыбрасывании, зрелые головки раздавливали в воде, а жидкость потом фильтровалась через газовое ситечко. Употребление конидий представляет то преимущество, что их удобно снять, и благодаря им постановка опыта не зависит от перитециев, которые сохраняют способность к прорастанию в течение очень короткого времени.

Cordyceps.

На основании наблюдений Тюлана (Tulasne, 1865) предполагают, что сумчатые плодоношения, которые встречаются на мертвых насекомых и принадлежат к роду *Cordyceps*, стоят в связи с конидиальными плодоношениями *Isaria*, встречающимися на тех же субстратах. Де-Бари (1869), высеивая споры и конидии на кожицу гусениц, установил наличие зародышей в крови, а на погибших животных появлялись плодоношения гриба, при чем из аскоспор развивались сумчатые плодовые тела и одна конидиальная дерновинка, а из конидий *Isaria* — только конидиеносцы. Внедрение грибка происходит, повидимому, не через кожицу, а только в том случае, если конидии или споры попадают в трахеи. Байль (Bail, 1904) отмечает, что он заразил 1860 комнатных мух тем, что кормил их мелким сахаром, к которому были примешаны конидии *Isaria*. На четвертый день мухи погибли.

Относительно развития плодоношений автор не дает указаний. Более поздних опытов как будто не было. Лакон (1914) утверждает, что связь между *Cordyceps* и *Isaria* данными опытами не подтверждается и что таких опытов вообще было слишком мало.

Bail Th. Eine käfervernichtende Epizootie. Ascherson-Festschrift, Berlin 1904.

Bary A. Zur Kenntnis insektentötender Pilze. Bot. Zeitung., 25, 1867 27, 1869.

Berlese A. N. Nuovi studi sulla malattia del frumento. Riv. pat. veg., 5 1897).

Goethe R. Weitere Untersuchungen über den Krebs der Apfelbäume. Landw. Jahrb., 9 (1880).

Frank B. Über einige neue und weniger bekannte Pflanzenkrankheiten. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 1 (1883).

Hartig R. Der Krebspilz der Laubholzbäume. Unters. a. d. Forstbot. Inst., München, 1 (1880).

Klebahn H. Einige Beobachtungen über Nectria cinnabarina. Gartenflora, 56 (1907).

— Haupt- und Nebenfruchtformen der Ascomyceten. Leipzig 1918.

Lakon G. Die mykologische Forschung der Pilzkrankheiten der Insekten. Zeitschr. f. angew. Entomol., 1 (1914).

Lapine N. Zum Krebs der Apfelbäume. Landw. Jahrb., 21, 937 (1892).

Münch E. Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzpflanzen. Naturw. Zeitschr. f. Forst- und Landw., 7 (1909).

Stäger R. Infektionsversuche mit gramineenbewohnenden Clavicepsarten. Bot. Ztg., 61 (1903).

— Neuer Beitrag zur Biologie des Mutterkornes. Zentralbl. für Bakt., (2) 17 (1907).

Tulasne L. R. und C. Selecta fungorum corpologia. 3, Paris 1865.

b) SPHAERIACEAE.

Melanommeae.

Rosellinia quercina, обусловливающая гибель корней дуба, уничтожает молодые дубки, особенно сеянцы в питомниках. Исследован этот гриб Р. Гартигом (1880). Rhizoctonio-образная грибница обволакивает корни снаружи и проникает в них. Гриб образует двоякого рода органы размножения: на мутовчатых разветвлениях гиф — бесцветные конидии и в перитециях — черно-бурые аскоспоры. Весной эти споры выбрасываются с такой силой, что отлетают на несколько миллиметров. Посеянные в воду, они, повидимому уже в октябре, прорастают в течение 24 часов, что стоит в некотором противоречии с данными относительно выбрасывания спор весной. На питательных средах развитие происходит очень энергично: „В питательном растворе на предметном стекле уже спустя 8 дней после посева спор грибница вырастала за края пластинки“. Действия конидий Гартиг не испытывал. Относительно опытов искусственного заражения он сообщает краткие и не очень определенные данные: „Если посеять споры паразита в питательный раствор на предметном стекле или на поверхность земли в горшке, грибница первоначально одинаково скоро развивается, и, если в горшке находится молодой дубок, она обволакивает его корни, если же растения нет, то спустя неделю грибница пропадает“. В другом месте автор говорит: „Если посеять споры на кору здорового одногодичного дуба близко к поверхности почвы, то развивается Rhizoctonio-образная грибница, которая стремится проникнуть внутрь. Данных относительно этих опытов и результатов нет, но отмечается, что тепло и влажность необходимы для

развития паразита и болезни". Более подробно описано заражение при помощи больного растения. „В конце июля я посадил посреди здоровых одногодичных дубков один больной, пораженный паразитом. К 20 августа погибло 5 близстоящих растений, а растения, находящиеся на расстоянии 15 *см*, начали болеть. К осени растения больше не погибали, но обследование в конце октября показало, что на расстоянии 40 *см* от больного растения все растения были заражены". Грибница проникает через верхушку главного корня и нежные верхушки нитевидных корней, которые возникают по его сторонам. Гифы пробуравливают стенки клеток, что говорит в пользу их паразитического характера. Корни защищаются от проникания гриба развитием пробковой ткани. Поэтому заражение встречается на тех местах, где вследствие отмирания бокового корня в пробковом покрове образуется разрыв. Кроме того проникание гриба возможно через чечевички.

Другая *Rosellinia*, обозначаемая *R. necatrix*, должна быть поставлена в связь с корневой гнилью виноградной лозы и других растений (*Dematophora necatrix*). Так как развитие грибницы *Dematophora* очень похоже на то, что наблюдают у *Rosellinia quercina*, то при опытах искусственного заражения можно применить те же приемы. См. Гартиг (1883), Франк (1896) и т. д.

Tricosphaeriaceae.

Г. Масси (Massee G., 1893) устанавливает связь *Tricosphaeria sacchari* с одной болезнью сахарного тростника, но, повидимому, вследствие не совсем точных методов работы он пришел к неверным заключениям. Прививая маленькие кусочки ткани, содержащие грибницу, внутрь побегов сахарного тростника, Масси получил цепочки конидий и также ложа *Melanconium*. Очевидно здесь были перенесены 2 гриба. По позднейшим наблюдениям *Melanconium* является только сапрофитом. В чистых культурах он не дает конидиальных цепочек. Напротив, конидиальная форма, названная *Thielaviopsis ethaceticus*, перенесенная на поверхность среза черенков, внедряется в продолжение немногих дней. Она-то и является причиной ананасной болезни сахарного тростника. Обе ее конидиальные формы — макро- и микроконидии — в чистых культурах, повидимому, переходят одна в другую. Значит связь *Tricosphaeria* с ананасной болезнью сахарного тростника не доказана и очень сомнительна.

Ceratostomataceae.

Опыты искусственного заражения с видами *Ceratostomella*, обусловливающими синюю гниль древесины, Мюнх (1908) ставил следующим образом: куски побегов ели 15—20 *см* длины и 2—3 *см* толщины стерилизовали внешне раствором сулемы и смывали стерильной водой. Затем делали из них поперечные срезы, которые и помещали в стеклянные сосуды с стеклянными же крышками. Следили, чтобы отдельно лежащие срезы не обсыхали. Эти срезы заражали частью аскоспорами *Ceratostomella piceae*, частью конидиями, принадлежащими *Graphium*, и, наконец, грибницей. Уже спустя 4 дня появлялись конидиеносцы *Graphium*, а спустя 2 недели — перитеции. Такие же опыты были поставлены с *C. pini* и *Endoconidiophora coerulescens*. Мюнх (1908) полагает, что степень проникания грибницы обусловлена содержанием воздуха в древесине. В то время как сочная древесина поражается лишь наполовину, в высохшей — грибница сильно разрастается и окрашивает ее в синий цвет, даже если срез после заражения покрыть сургучом и прекратить приток воздуха (Мюнх, 1909).

Cucurbitariaceae.

Виды *Cucurbitaria* будут отчасти паразитами поранений (Wundparasiten). Однако, хотя они и проникают в побеги питающих растений только через раны, позднее они способны распространяться и в живых тканях. Это наблюдение относится, согласно Тюбефу (Tubeuf, 1886), к одному из самых известных видов, к *C. laburni* на золотом дожде. Заражение производили, перенося маленькие кусочки древесины с развившейся в ней грибницей в точно к ним подходящие вырезы в здоровой древесине, и, во-вторых, вливая воду с аскоспорами или конидиями в сучок, на котором скальпелем был сделан косой надрез. В обоих случаях раны заделывались древесной замазкой. Связь с видами *Cucurbitaria* многочисленных конидиальных стадий, описанных Тюланом и позднее Тюбефом (1886), подвергается сомнению.

Mycospharellaceae.

Stigmatea.

Stigmatea robertiani развивает свою грибницу под кутикулой внешней стенки клеток кожицы у Geranium robertianum и образует там же перитеции, которые вздувают дугообразно кутикулу, а позднее, созревая, разрывают ее. Листья и пораженные бо-

лезнью места не особенно страдают. Здесь мы имеем дело с хорошо приспособившимся паразитом, вследствие чего ростковые трубки спор на искусственных средах развиваются слабо (Клебан, 1918). Опыты искусственного заражения путем раскладывания пораженных листьев над здоровыми не дали результатов, может быть вследствие того, что листья были не очень свежи. При дальнейших опытах рекомендуется подопытные растения культивировать в горшках и употреблять только что срезанные листья или же, еще лучше, так располагать здоровые и зараженные растения, чтобы споры с пораженных сами падали на здоровые.

Mycosphaerella, Sphaerulina.

Приемы опытов с *Mycosphaerella* автор сообщает по практике личных работ. Виды этого рода в некоторой части и, вероятно, даже в большей части находятся в связи с конидиальными формами, которые принадлежат к несовершенным родам *Septoria*, *Phleospora*, *Ramularia*, *Cercospora* и, повидимому, еще и другими. Единственным средством получить сумчатые плодоношения несовершенных форм до сих пор является выдерживание в течение зимы листьев, покрытых конидиальными ложами. Но этот способ не всегда ведет к желательному результату. Конечно можно также отыскать сумчатые плодоношения в природе и устанавливать их связь с почти неизвестными конидиальными стадиями. Для сохранения в течение зимы частей растения с конидиями с целью получить на них сумчатые плодоношения по существу поступают так же, что и при сохранении телейтоспор у ржавчинных. Здесь можно поэтому сослаться на последующее изложение. При сборе материала для зимования, а также и при дальнейшей его обработке, следует соблюдать особую предосторожность В общем лучше всего, кажется, собирать грибы незадолго до полной зрелости перитециев и их высушивать. Если нужно, их опять размачивают в воде и держат влажными. В этом случае в течение нескольких дней перитеции совсем созревают, и легко можно добиться того, чтобы они выбросили споры. Для этого перитеции снова промывают водой, потом быстро обсушивают снаружи пропускной бумагой и выносят на сухой воздух. Не проверено, как долго перитеции сохраняют способность созревать и выбрасывать споры, если их содержать сухими. Если задержаться со сбором материала слишком долго, то может случиться, что споры будут выброшены раньше и не могут служить для опытов.

При опытах с ними применяются различные способы, в зависимости от свойств гриба. Если имеется много перитециев одного единственного вида, то надо подготовить гриб вышеописанным способом к выбрасыванию спор и поместить его на сетке, прикрепленной над подопытным растением так, чтобы выброшенные споры упали непосредственно на предназначенные для заражения части растения. Этим способом можно заражать отдельные определенные листья. Поскольку имеется много материала, можно также осыпать спорами все растение, а чтобы убедиться, попали ли споры на отдельные листья, помещают на листьях покровные стеклышки или кусочки их и затем проверяют под микроскопом, Перитеции прекращают выбрасывать споры, поскольку они высыхают, но могут возобновить, если их вновь смочить. При некоторых условиях листья с перитециями можно заставить неоднократно выбрасывать споры и таким образом получить богатый материал. После выбрасывания спор подопытное растение ставят на 4—5 дней под стеклянный колокол ради того, чтобы споры могли прорасти. Другой способ состоит в том, что влажные части растения с грибами на них помещают на сетку над растением и тотчас же накрывают колоколом; в этом случае, если растение держать в сильно влажных условиях, листья высыхают медленно. Оба способа ведут к одной и той же цели, но который из них удобнее, автор не установил. Наконец, поскольку перитециев имеется мало, их можно отпрепарировать и затем раздавить под микроскопом; таким образом освобожденные споры вбирают в капиллярную трубку и переносят на соответствующие места подопытного растения. Этот метод длителен и ненадежен, так как трудно установить, не пристали ли к отпрепарированным перитециям посторонние зародыши.

В большинстве случаев рекомендуется одновременно с опытами искусственного заражения ставить чистые культуры; в некоторых случаях это необходимо для того, чтобы контролировать результаты заражения. В некоторых условиях чистые культуры можно получить из аскоспор и едва образовавшимися конидиями произвести заражение. Опыты с аскоспорами имеют непосредственную доказательную силу за себя, и к чистым культурами надо прибегать лишь в тех случаях, когда непосредственные опыты по каким-либо причинам не удались или недостаточно точны, или же если имеющегося количества спор недостаточно для обширных опытов, например со специализацией форм.

Вышеуказанным способом автор ставил опыты с многими видами *Mycosphaerella*. *M. ulmi* автор получал так обильно и в таком чистом виде, что листья вяза, на котором производились заражения выбрасыванием спор, позднее густо покрылись спорами, и места, где для проверки были положены кусочки покровного стеклышка, выделялись зелеными четыреугольными пятнами (Клебан, 1905). *M. hippocastani*, несмотря на то, что листья во время сбора были густо покрыты ложами *Septoria*, при многочисленных опытах в течение целого ряда лет давал очень немного перитециев и соответственно с этим только слабое заражение (1908). Также и с *M. sentina*. Опыты были поставлены на листьях груши. Заражение вызывалось выбрасыванием спор на листья (1908). Результаты с уверенностью можно было установить во всех 3 случаях приблизительно через 3 недели.

Большие затруднения встретили опыты с *Mycosphaerella millegrana*, которые автор ставил для того, чтобы установить ее связь с *Cercospora microsora*, обусловливающей появление на листьях лип маленьких черных пятен. На перезимовавших листьях постоянно находилась еще одна *Mycosphaerella* — *M. punctiformis*, которая, повидимому, является неизбежным спутником первой и которая одновременно с ней выбрасывает свои споры. Хотя заражение вышеописанным способом и дало ожидаемые пятна *Cercospora* и конидиеносцы, но нельзя было установить, которое из двух сумчатых плодоношений дает этот результат. Надо было поставить параллельные опыты с вполне чистым материалом одного или обоих видов. Установить чистоту такого материала является неразрешимой задачей, так как оба гриба можно различить только по выбрасываемым спорам или же по срезам перитециев, которые нелегко приготовить. Вспомогательным средством в этом случае были чистые культуры. Для получения их улавливали выброшенные споры из возможно маленького кусочка листа на каплю питательного агара, находящегося на покровном стеклышке. Потом каплю препарировали на маленькие кусочки, из которых каждый содержал одну спору, и переносили во влажные камеры. Развившаяся грибница давала конидии *Cercospora*, когда они происходили из продолговатых спор *M. millegrana*, и разветвленные цепочки *Ramularia*, когда они происходили от коротких спор *M. punctiformis*. Если споры были выброшены не очень густо, то на слабо разросшихся грибницах можно было наблюдать оба вида конидий в одних и тех же влажных камерах.

Осенью на листьях липы, осыпанных спорами обоих грибов, начинала развиваться *M. punctiformis*, но уже когда листья увяли и опадали. Сначала появилась конидиальная стадия, а после зимы образовались перитеции. Ростковые трубки, часто образовавшиеся уже весной, могут, очевидно, проникать только в стареющиеся или в отмершие листья (Клебан, 1918).

Точно так же, как виды *Mycosphaerella*, ведет себя и *Sphaerulina Rehmiana*, единственный вид рода *Sphaerulina* (Клебан, 1918).

Опыты искусственного заражения с конидиальными грибами принадлежащими к *Mycosphaerella* и *Sphaerulina*, ставятся так же, как с несовершенными родами *Septoria*, *Cercospora*, *Ramularia* и т. д Детали следует искать в главе *Fungi imperfecti*.

Guignardia.

Guignardia Bidwellii является причиной болезни винограда, известной под именем черной гнили (Blackrot). К вторичным формам плодоношения принадлежат макро- и микроконидии, которые образуются в урнообразных пикнидах. Макроконидиальная форма известна под именем *Phoma uvicola*. Виала (Viala) и Равац (Ravaz, 1888) производили опыты заражения аскоспорами на листьях и макроконидиями на ягодах, при чем в обоих случаях возникали пикниды с макро- и микроконидиями. Реддайк (Reddick, 1911) пытался произвести заражение, но безрезультатно. Предполагают, что положительный результат прививки зависит от какого-либо предварительного повреждения. Согласно Виала (1896), легче всего можно вызвать болезненные явления на ягодах винограда тем, что перед посевом конидий ягоды погружают на 5—10 минут в горячую воду. Но едва ли здесь речь может итти о паразитическом поражении, так как под влиянием высокой температуры в лучшем случае внешние слои клеток безусловно будут или убиты или повреждены. Виала и Пакоте (Pacottet, 1904) высказывают мнение, что при заражении имеет значение содержание в ягодах кислот.

Glomerella, Neozimmermannia.

Оба рода, *Glomerella* и *Neozimmermannia*, близки друг к другу по образованию аппрессориев при прорастании спор и конидий и по построению их конидиального ложа; они будут здесь описаны в виде приложения. Возможно, что лучше всего их рассматривать как представителей особой группы, которая является

связующим звеном между *Mycosphaerellaceae*, *Pleosporaceae* и *Gnomoniaceae*.

Glomerella обнимает сумчатые плодоношения целого ряда очень схожих между собою конидиальных грибов из родов *Glocosporium* и *Colletotrichum*, которые вызывают болезни у Rosiflorae. Известный *Glocosporium fructigenum* вызывает горькую гниль яблок. Плоды хозяина можно заражать, согласно Таубенхаузу (Taubenhaus, 1911), перенося конидии; их ростковые трубки после образования апрессория пробуравливают кожицу. Заражение на плодах хозяев иногда удается в тех случаях, когда конидии вносят под кожицу через маленькие ранки. Перед тем как произвести прививку, плоды следует обмыть 5% раствором формалина, а затем промыть в стерильной воде. После прививки необходимо на плоды надеть бумажные мешочки. Во многих случаях перитеции удавалось получить в чистой культуре.

Коордерс (Koorders, 1907) искусственно заражал конидиями и аскоспорами *Neozimmermannia elasticae* листья Ficus elastica, частью срезанные, частью на растениях в горшках. Конидии были взяты с конидиального ложа или из чистых культур, а аскоспоры получали из раздавленных отпрепарированных перитециев. Конидии (споры) наносили на листья стеклянной палочкой или кисточкой, немедленно прибавляя сюда вытяжки из слив. При одной части опытов поверхность листа оцарапывали иголкой. В этих случаях опыты давали положительный результат, между тем как заражение неповрежденных листьев не удавалось. В некоторых случаях употреблялся метод „агаровых покровных стеклышек" („Deckglas-Agarmethode"), но автор не сообщает подробностей метода. Повидимому он клал покровные стеклышки, на которых в каплях агара имелась чистая культура грибка, агаровой стороной на листья.

Pleosporaceae.

Physalospora.

Sphaeropsis pseudodiplodia (*Sph. malorum*), по Арно (Arnaud, 1912), является конидиальной формой *Physalospora cydoniae* и вызывает пятна на листьях яблоней, черную гниль на плодах и рак на коре. Хеслер (Hesler, 1916) сообщает об успешных опытах искусственного заражения, при которых грибница и конидии из чистых культур переносились на поранения на плодах и коре. После прививки плоды держали во влажных камерах. Зара-

жение листьев производили при помощи пульверизатора конидиями, которые были получены из раздавленных пикнид, взятых из чистых культур; эти опыты были успешны постольку, поскольку листья предварительно были поранены, а после прививки содержались влажными.

Venturia.

Виды *Venturia* — это сумчатые формы конидиального гриба, именуемого *Fusicladium*, возбудителя и спутника некоторых болезней растений, из которых самыми известными и опасными будут на яблонях и грушах *Venturia chlorospora* и *V. pirina*. Все эти грибы почти каждое лето бывают широко распространены, почему опыты с заражением наталкиваются на своеобразные затруднения, на что указывал уже Адерхольд (1896) и что автор подтверждает на основании собственного опыта. Аскоспоры легко перенести на питающее растение, пользуясь их способностью самовыбрасываться. Конидии можно отделить в воде кисточкой и перенести на растение при помощи пульверизатора.

Автор ставил на дичках груши опыты с аскоспорами *V. pirina*. Эти опыты остались совершенно безрезультатными, между тем как имеющаяся одновременно в очень незначительном количестве *Entomopeziza Soraueri* (см. ниже), споры которой были выброшены одновременно, вызвала очень обильное образование плодоношений *Entomosporium*. Может быть благородные сорта груши были бы более восприимчивы. Так же мало успешны были опыты с *Venturia ditricha* на *Betula verrucosa* и *pubescens* (Клебан, 1918). Условия заражения требуют более точного исследования.

Didymella.

Didymella lycopessici является причиной стеблевой гнили помидоров, вследствие которой растение отмирает. Заражение происходит легко: 1) при помощи аскоспор, которые оставляют выбрасываться с перезимовавшего, покрытого перитециями, куска стебля на молодые здоровые стебли; 2) при помощи конидий, принадлежащих *Diplodia*; для этого в воду кладут кусок больной коры и этой водой опрыскивают или смачивают растение; 3) грибницей из чистых культур, которую переносят на здоровые стебли. Во всех случаях растения ставят на несколько дней под стеклянный колокол (Клебан, 1921).

Leptosphaeria, Ophiobolus.

Leptosphaeria herpotrichoides поражает солому ржи около почвы и вызывает ее полегание. Манжен (Mangin, 1899) производил искусственное заражение сеянцев в горшках, поливая их водой, в которой находились споры, полученные из раздавленных перитециев. Опыты эти вели к отмиранию растений, и на них возникали сумчатые плодоношения. На-ряду с последними развивалась конидиальная форма, похожая на *Dictyosporium opacum*. Связь ее с *Leptosphaeria*, признаваемая Манжен (1899), требует более сильного доказательства.

Ophiobolus graminis ведет себя схоже с *Leptosphaeria herpotrichoides*, но, согласно Манжен (1899), менее опасен. Опыты, поставленные тем же способом, также дали сумчатые плодоношения. Конидиальное плодоношение проявляется в форме *Coniothyrium rhizophilum*.

Pleospora (Pyrenophora).

Виды *Pleospora* большей частью сапрофиты. Дидике (Diedicke, 1902) предполагал получить конидии *Helminthosporium*, перенося на листья Bromus asper раздавленные перитеции, соответствующие *Pleospora* (*Pyrenophora*) *trichostoma* и которые он назвал *Pleospora bromi*. Точно так же Дидике заражал раздавленными перитециями одной *Pleospora* ячменя листья Hordeum hexastichum. Кёльпин-Равн (Kölpin-Ravn, 1901) уже раньше производил опыты с ячменем, следуя, как он пишет, методам, указанным Эриксоном и Хенингом. Он заражал их больными частями листьев или конидиями, взятыми с больных листьев, и, наконец, грибницей из чистых культур. Он указывает на сходство склероциев этого гриба с *Pyrenophora polytricha*. Если наблюдения Дидике верны, то виды группы *Pleospora* — паразиты.

Кёльпин-Равн (1901) доказывает, что первичное заражение *Helminthosporium* обыкновенно происходит через семена. Он выращивал проростки в чаше с почвой под большим стеклянным колоколом, который снизу был герметически закрыт ртутью и раствором сулемы. Чтобы воздух внутри колокола был достаточно прохладный, колокол орошали снаружи водой, а чтобы устранить чрезмерную влажность воздуха внутри, пропускали через вату струю воздуха. Весь этот аппарат стерилизовался до того, как туда были положены семена. Для поддержания влажности снаружи вводили стерильную воду. Посев семян, которые

были протравлены по иензеновскому методу горячей водой, медным купоросом или сернокислым калием, дал растения, почти свободные от грибов (1,4% были больны); посев же непротравленных или искусственно зараженных семян дал до 15% больных растений.

Massariaceae.

Charrinia.

Charrinia diplodiella — это сумчатое плодоношение *Coniothyrium diplodiella*, который вызывает белую гниль — опасную болезнь винограда. Вила и Равац (1894) получали сумчатые плодоношения через 2—3 недели после того, как постепенно высушивали и одновременно охлаждали во влажном песке пораженные конидиями побеги или другие органы. Заражение не распространялось на зеленые и кислые ягоды, но наблюдалось здесь в тех случаях, когда ягоды предварительно погружали в кипяток, содержащий щелочь; таким путем конидиальные плодоношения получали из аскоспор в течение 4—6 дней, а из конидий — в 10—12 дней. Ввиду того, что горячая вода безусловно убивала поверхностные слои клеток, при этом методе с точностью можно говорить не о заражении, а о культуре на мертвом органическом субстрате (ср. Истванфи, 1902). Согласно Баккарини (Baccarini, 1888), заражение происходит только на ягодах, а не на других органах.

Gnomoniaceae.

Gnomonia.

Род *Gnomonia* в широком смысле, включая сюда *Gnomoniella*, *Ophiognomonia* и т. д., охватывает некоторое число морфологически очень схожих, но биологически различных грибов. Одни из них — ярко выраженные паразиты и возбудители очень опасных болезней; другие — безвредные сапрофиты, споры которых уже весной попадают на листья и прорастают, но дальше развиваются только после отмирания листвы. Некоторые образуют конидиальные плодоношения, которые принадлежат несовершенным родам *Gloeosporium*, *Marssonia*, *Leptothyrium* и др., другие же не дают никаких конидий. Эти отношения были выяснены методом чистых культур и искусственного заражения. Исследование их требует одновременного применения обоих методов (Клебан, 1905, 1907, 1908, 1918).

Содействующими факторами при работах с видами *Gnomonia*

является относительно незначительная у большинства видов величина плодовых тел, которые легко отделить, не повреждая, от окружающей их ткани при помощи острого ножа. Поставить чистые культуры можно следующим образом: выделенный перитеций проводят последовательно несколько раз через стерильную воду, пока предположительно на нем не осталось ни бактерий, ни спор каких-либо грибов. Тогда перитеции раздавливают при помощи иглы и проверяют под микроскопом без покровного стекла. Если исследование обнаружит наличие хорошо развитых сумок и спор, их переносят платиновой иглой в каплю агара во влажные камеры. В благоприятных случаях достаточно одного единственного перитеция и 6—12 влажных камер, чтобы получить чистые культуры.

Для искусственного заражения теоретически должно бы быть достаточно одного единственного перитеция, который содержит сотни спор, чтобы с легко заражающимися видами, напр. *Gnomonia leptostyla* и *Gnomoniella tubiformis,* получить надлежащие результаты. В общем рекомендуется отпрепарировать большее число перитециев, чтобы иметь достаточное для заражения большого числа листьев количество материала. При этом всегда есть возможность получить смеси; опасность эта может появиться, например, при работах с *Alnus,* на которой автор нашел не менее 4 видов *Gnomonia*; последние в некоторых условиях могут встречаться на одном и том же листе. Едва ли надо подчеркивать, что здесь могут оказать существенную помощь совместно как микроскопическое исследование, так и чистые культуры. Полученные споры переносят, в зависимости от условий, при помощи кисточки, капиллярной пипетки или пульверизатора.

Для получения небольшого количества спор совершенно чистых или почти совершенно чистых из перитециев, имеющих длинные клювики, как, например, *G. padicola, rosae, Vleugellii* и др., употребляют следующий прием (Клебан, 1908, 1918): листья, покрытые перитециями, кладут на сырую пропускную бумагу таким образом, чтобы торчащие клювики перитециев были направлены кверху. При достаточной влажности на концах клювиков появляются крошечные капельки, содержащие споры. На основании опыта можно утверждать, что они фактически чисты. Их снимают платиновой иглой или стеклянной капиллярной трубочкой, и они служат как для получения чистых культур, так и для заражения.

Выделение спор капельками есть особая форма самовыбрасывания спор из перитециев, которое, кроме *Gnomonia,* встречается

и у других видов, обладающих длинным и узким клювиком, и наблюдается в тех случаях, когда перитеции, предварительно пропитанные водой, будут выставлены на сухой воздух. В соответствующих случаях можно произвести заражение питающего растения таким образом: лист с перитециями, предварительно размоченый в воде, помещают на сетке над подопытным растением и дают ему высыхать. Применимость этого метода обусловлена двумя факторами. С одной стороны, перитеции на листьях или стеблях, которыми пользуются для заражения, должны быть в достаточном количестве, чтобы можно было ожидать большого количества самопроизвольно выброшенных спор. Это условие не всегда имеется налицо. Перитеции *Gnomonia platani*, *G. quercina* и особенно *G. tiliae* часто бывают очень разбросаны по поверхности листьев, так что опыты с выбрасывающимися спорами оказываются малонадежными; приходится искать отдельные перитеции с помощью препаровального микроскопа и выбирать их поодиночке. Во-вторых, споры грибка должны быть чистыми или, по крайней мере, не иметь примеси спор таких грибов, которые могут помешать опыту. Если это обстоятельство имеет место, то при учете опытов его следует принять во внимание.

Для выделения чистых культур хорошо получать споры путем самовыбрасывания. Если же при этом получаются смешанные споры разных грибов, как, напр., с листьев граба, где рядом встречаются *Sphaerognomonia carpinae* и *Gnomonia Stahlii*, то из агара, на который были выброшены споры, следует вырезать маленькие кусочки только с одной спорой и переносит их в новые влажные камеры (Клебан, 1918). Методы искусственного заражения при помощи конидиальных грибов описаны в *Fungi imperfecti*, особенно в *Melanconiaceae*.

Mamiania.

Mamiania fimbriata образует на листьях Carpinus betulus черные мозолистые утолщения, состоящие из ткани листа и грибницы, в которых после зимы созревают перитеции с их длинными клювиками. По всей вероятности споры выбрасываются сами или же, подобно *Gnomonia*, собираются на верхушке клювика, когда ложе гриба становится влажным. В свое время искусственное заражение было произведено автором при помощи раздавленных отпрепарированных перитециев, споры из которых переносили на листья при помощи пульверизатора (Клебан, 1918). Спустя месяц

появились маленькие мозоли, которые постепенно увеличивались и созрели к следующей весне. Конидии не образовались. Тот факт, что споры отказываются прорастать в искусственной среде, зависит, возможно, от их паразитического образа жизни.

Clypeosphaeriaceae.

Hypospila pustula появляется после перезимовывания на листьях дуба, которые летом были покрыты аскоспорами. Заражение можно произвести так: тщательно промытые в воде листья со зрелыми перитециями после их обсушивания снаружи помещают над маленькими дубками в горшках, — при медленном подсыхании споры выбрасываются на листья; или же раздавливают в воде большое число перитециев, отпрепарированных из перезимовавших листьев, и опрыскивают ею листья дубков при помощи пульверизатора. Если в течение лета посев не даст положительного результата, можно предположить, что дальнейшее развитие спор, которое при влажном воздухе, конечно, наступает тотчас же, будет иметь место на стареющих или опавших листьях (Клебан, 1918).

Valsaceae.

Valsa leucostoma, по Адерхольду (1903), является причиной опасной болезни вишни. Прививки, повидимому при помощи конидий, производили на поранениях от надрезов на коре, на срезах побегов и на местах, убитых горячим железом или горячей водой, или же на убитых морозом почках (Адерхольд, 1903). Эти опыты хотя и дают некоторый результат, т.-е. вокруг места, где была произведена прививка, начиналось более или менее сильное развитие гриба, который обусловливал отмирание ткани, т.-е. явления соответствовали тем, что наблюдались при эпидемическом появлении болезни,—но полного поражения не наблюдалось. Последнее, по мнению Адерхольда, зависит от климата, который обусловливает совсем особое, ненормальное, состояние растения. Мюнх утверждает, что здесь, как и в других случаях, решающим фактором при поражении будет количество воздуха в древесине.

Аппель (Appel, 1904) производил тщательные, но, очевидно, безрезультатные опыты по заражению ольхи (Alnus viridis) *Valsa oxystoma*.

Valsa sardida живет на тополях и вызывает отмирание молодых деревьев. Склеенные конидии пикнидиальной формы — *Cy-*

tospora chrysosperma — выходят из отмершей коры в виде золотисто-желтого шнура. Позднее образуются и сумчатые плодоношения. Мюнх (1909) получал из аскоспор и конидий тождественные чистые культуры. С ними он производил опыты искусственного заражения на срезанных живых ветвях Populus balsamifera. Одну часть срезанных ветвей оставляли лежать на воздухе и таким путем уменьшали в них количество содержащейся воды; потом на поверхность среза у всех подопытных ветвей наносили конидии из чистых культур, а потом вплоть до появления результатов заражения держали в закрытых стеклянных сосудах. Гриб развивался только на тех ветвях, которые потеряли вследствие испарения 21% и больше своего первоначального веса. Прививки (Impfung) на ветвях живых богатых соком деревьев остались безрезультатны (Мюнх, 1909). Метод опыта в этом случае не указан. Не исключено, что при других обстоятельствах ветви на живых деревьях могут быть также заражены.

Шелленберг (Schellenberg, 1912) ставил опыты с *Cytospora vitis*, которая должна принадлежать к *Valsa vitis*. Конидии переносили на листья и молодые побеги и зараженные органы изолировали при помощи плотных бумажных мешочков и поддерживали влажными. Результатом было появление бурых пятен. Новые плодовые тела образуются только в течение года и только на мертвых побегах, лучше всего на сломанных, опавших или срезанных.

Diaporthe batatatis — возбудитель сухой гнили бататов (Ipomaea Batatas). Хартер и Фиельд (Harter и Field, 1890) вводили конидии или грибницу из чистых культур в поранения, нанесенные стериальной иглой у основания стебля. Опытные растения выращивались из клубней, которые протравливали в продолжение 20 минут в 0,5% формалине и потом высаживали в стерильный песок. Результаты появились через 6—8 месяцев, но не у всех растений, которым была произведена прививка.

Относительно *Diaporthe taleola*, которая вызывает болезнь ветвей дуба, Гартиг установил, что заражение происходит через раны. Но опытов он не ставил.

Melanconidaceae.

С *Melanconis modonia* или с другим схожим с ней грибом связывают *Coryneum* как ее конидиальное состояние. Он является причиной чернильной болезни благородного каштана. Пред-

полагают, что это доказано опытами искусственного заражения Бриози и Фарнети (Briosi и Farnetti, 1913). Другие авторы высказывают по этому поводу сомнения.

Шер (Shear, 1911) рассматривает *Cryposporella viticola* как сумчатую форму *Fusicoccum viticolum,* который вызывает болезнь винограда, известную под именем „dead arm". По данным Реддайка (1914), опрыскивая конидиями, взятыми из чистых культур, можно перенести гриб на совсем молодые зеленые побеги. Далее, заражение можно произвести при помощи мицелия или конидий из чистых культур, вводя их в поранения у основания стебля. Заражение поранений корней остается без результата.

Melogrammataceae.

Botryospheria ribis, согласно Гроссенбахер и Дуггар (Grossenbacher и Duggar 1911), является причиной болезни смородины и крыжовника; болезнь появляется еще на зеленых сочных ветвях. Здесь находят пикниды *Macrophoma.* На мертвых побегах возникают пикниды *Dothiorella,* а позднее сумчатые плодоношения. Чистые культуры дают только грибницу, и эта грибница, внесенная в раны, вызывает болезнь. Прививка при помощи аскоспор и конидий не дала положительного результата. Для того чтобы произошло заражение, необходимо известное состояние предрасположения. Момент, когда останавливается рост в длину и начинается рост в толщину, кажется, должен быть самым подходящим для заражения; рыхлость ткани и химические условия являются решающим фактором. Грибок проникает предпочтительно, повидимому, у основания листового черешка.

Endothia parasitica вызывает очень распространенную в Америке гибельную болезнь благородного каштана. В больной коре возникают сперва пикниды, из которых выходят желтые шнурки конидий, а позднее — сумки, заключенные в строму. Андерсон и Ранкин (Anderson и Rankin, 1914) дают подробное описание и сообщают очень обширную литературу.

Результат дают только прививки в раны, да и то не всегда. Зеленые органы растения и неповрежденная кора противостоят заражению; чечевички тоже не содействуют проникании грибка. Заражения производили, перенося в раны споры или конидии в сухом состоянии или с водой, мертвые кусочки коры с грибницей или грибницу из чистых культур. Чтобы поддерживать влажность на местах прививок, принимали различные меры, напр. насажи-

вали стеклянные кольца, которыми после заражения закрывали поранения снаружи. По мнению Клинтона (Clinton), деревья становятся более восприимчивыми, вследствие повреждений от мороза.

Aderhold R. Die Fusicladien unserer Obstbäume. Landw. Jahrb, 25 (1896).

— Über das Kirschbaumsterben am Rhein etc. Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- u Forstw. Kais. Gesundh.-Amt., 3 (1903).

Anderson P. I. und Rankin v. H. Endothia canker of chestnut. Conuell. Univ. Agric. Exp. Station. Bull., 347 (1914).

Appel O. Über bestandsweises Absterben von Roterlen. Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstw., 2 (1904).

Arnaud G. Notes phytopathologiques. Montpellier. Ecole nat. d'Agric. Ann., 12 (1912).

Baccarini P. Appunti per la biologia del Coniothyrium diplodiella Malpighia, 2 (1888).

Briosi G. и Farnetti R. Ancora sulla moria dei castagni etc. Atti Acad. dei Lincei. Rendiconti 22, 2, Sem. (1913).

Clinton G. P. Chestnut bark disease. Connecticut. agric. Exp. Station. Rep. of. the bot. 1908.

Diedicke H. Über den Zusammenhang zwischen Pleospora und Helminthororiumarten. I und II. Zentralbl. f. Bakt., 9 (1902); 11 (1903).

Eriksson J. und Henning E. Die Getreideroste. Stockholm 1896.

Frank B. Die Krankheiten der Pflanzen. 2 1896.

Grossenbacher J. und Duggar B. M. A contribution to the life-history, parasitism and biology of Botryosphaeria ribis. New-York Agric. Exp. Stat. Techn. Bull., № 18 (1911).

Harter L. L. und Field E. C. A dryrot of sweet potatoes caused by Diaporthe batatatis. U. S. Dep. of Agric. Bureau of Plant Ynd. Bull. № 281 (1913).

Hartig R. Der Eichenwurzeltöter. Unters. d. d. Forstbot. Inst. zu München 1 (1880).

— Rizomorpha (Dematophora) necatrix n. sp. Unters. a. d. Forstbot. Inst. zu München, 3 (1883).

— Eine krebsartige Rindenkrankheit der Eiche. Forstl. naturw. Zeitschr., 2, (1893).

Hesler L. R. Blackrot, leafspot and canker of pomaceous fruits. Cornell. Univ. Agric. Exp. Station Bull., 379 (1916).

Howard A. On some diseases of the sugar-cane in the West-Indies. Ann. of Bot., 17 (1903).

Istvanffy G. v. Etudes sur le rot livide de la vigne. Ann. de l'Inst. central. ampelol. R. Hongrois, 2 (1902).

Klebahn H. Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. I und II. Jahrb. f. wiss. Bot., 41 (1905).

— Untersuchungen über einige Fungi imperfecti IV, V, VII Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten, 17 (1907), 18 (1908).

— Haupt- und Nebenfruchtformen der Ascomyceten. Leipzig 1918.

— Der Pilz der Tomatenstengelkrankheit und seine Schlauchfruchtform. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 31, 1 (1921).

Kölpin-Ravn F. Über einige Helminthosporiumarten. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., 11 (1901).

Köorders S. H. Botanische Untersuchungen über einige in Java vorkommende Pilze. Verh. d. K. Akad. van Wetenschappen te Amsterdam 2. Sect. Deel. 13, № 4 (1907).

Mangin L. Contribution à l'étude de quelques parasites du Blé. Oversigt. Kgl. Dansk. Vid. Selsk. Forh. 1899.

Massee G. On Trichosphaeria sacchari. Mass. Ann. of Bot., 7 (1893).

Münch E. Die Blaufäule des Nadelholzes. Naturw. Zeitschr. für Forst.- u. Landw., 6 (1908).

— Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzpflanzen. Naturw. Zeitschr. f. Forst- und Landw., 7 (1909).

— Versuche über Baumkrankheiten. Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landw., 8 (1910).

Reddick D. The black rot disease of grapes. Cornell. Univ. Agric. Exp. Station. Bull., 293 (1911).

— Dead-arm disease of grapes. New-York. Agric. Exp. Station. Geneva. Bull., № 389 (1914).

Schellenberg H. C. Über die Schädigung der Weinrebe durch Valsa vitis. Ber. d. deutsch. bot. Ges., 30 (1912).

Shear C. L. The ascogenous form of the fungus causing dead-arm of the grape. Phytopath., 1 (1911).

Taubenhaus J. J. A study of some Gloeosporiums and their relation to a sweet pea disease. Phytorath., 1 (1911).

— A further study. Phytopath., 2 (1912).

Tubeuf C. v. Cucurbitaria laburni auf Cytisus laburnum. Bot. Zentralbl. 26 и 27 (1886).

Viala P. Sur le développement du Blackrot de la vigne (Guignardia Bid wellii). Comp. rend., 123 (1896).

Viala P. и Pacottet P. Sur la culture du Blackrot II. Sur le développement, du Black rot. Rev. de Viticult., 1904.

Viala P. и Ravaz L. Recherches expérimentales sur les maladies de la vigne. Compt. rend., 106 (1888).

— Sur les périthèces du rot blanc de la vigne Charrinia diplodiella. Compt. rend., 119 (1894).

Voglino P. Ricerche intorno allo sviluppo et parasitissmo delle Septoria graminum. Ann. de R. Accad. d'Agric. di Torino, 46 (1904).

c) DOTHIDIACEAE.

Sohaeriallae.

Dothidiaceae вызывают на живых листьях черные корковидные образования, которые по существу состоят из сплетений гиф (строма) и остатков питающей ткани, как, например, *Phyllachora graminis* и *Diachora onobrychidis*, а на ветвях—бугорчатые на-

росты, насквозь пронизанные грибом, как, например, *Plowrightia morbosa*. В строме возникают наподобие простых углублений без особых стенок перитеции. Очевидно все *Dothidiaceae* — паразиты, но опыты с ними едва ли ставили. У *Dothidiella ulmi* автору удалось установить, что сумки в перитециях созревают после зимнего покоя и только в это время споры выбрасываются. По всей вероятности у других видов наблюдается то же самое. Для того, чтобы произвести заражение, надо ставить опыт так, чтобы выброшенные споры попадали на соответствующие части растения. Но поставленный таким способом в свое время опыт с *Dothidiella ulmi* не дал положительного результата.

5. Histeriineae.

Histeriineae характеризуются удлиненными перитециями с плотной черной оболочкой, вскрывающимися продольной трещиной. *Lophodermium pinastri* обусловливает гибель сосен. Споры, по данным Тюбефа, созревают на иглах, опавших вследствие болезни, после зимнего покоя и только тогда выбрасываются, но необыкновенно медленно. Для получения чистых культур перезимовавшие иглы оставляют долго лежать на желатинизированной питательной среде. Тюбеф (1910) получал чистые культуры на древесине, хлебе, стерилизованных иглах и таким образом установил связь с пикнидами, развивающимися на иглах. Опыт с искусственным заражением здоровых игол остался без результата. Точно также оказались безуспешными (Тюбеф, 1910) опыты заражения сосен при помощи „самовыбрасывающихся“ спор, между тем как опыты Прантля (Prantl, 1877), который частью покрывал иглами, покрытыми перитециями, грядки с растениями, частью подвязывал такие иглы к ветвям больших сосен, оказались успешными.

Prantl K. Hysterium pinastri. Flora 35 (1877).

Tubeuf C. v. Studien über die Schüttekrankheit der Kiefer. Arb. a d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstw. a. Kais. Gesundh.-Amt., 2 (1901).

— Kultur parasitischer Hysteriaceen. Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landw., 8 (1910).

6. Discomycetae.

a) PHACIDIACEAE.

Rhytisma acerinum образует большие, большей частью круглые черные пятна на листьях клена. На листьях, лежащих на земле, после зимнего покоя образуются сумчатые плодоношения. Если к определенному времени, приблизительно в мае, оставить листья влажными в стеклянной банке, то можно различить серый гимений

который освобождается в некоторых местах вследствие разрыва черного ложа, и заключенные в нем сумки со спорами. Если такой лист извлечь из банки, то при внимательном наблюдении можно заметить белые облачка спор, выбрасываемых из гимения. Для искусственного заражения достаточно подержать некоторое время лист, выбрасывающий споры, над растениями с молодыми листьями и потом накрыть это растение стеклянным колоколом. Приблизительно спустя 3 недели появляются маленькие желтоватые пятна, которые мало-по-малу чернеют, и позднее выступает конидиальная стадия гриба *Melasmia acerina*. Но эти конидии, повидимому, неспособны заражать (Клебан, 1888). Другие виды *Rhytisma* схожи по своему развитию и, по всей вероятности, можно их использовать тем же способом.

Klebahn H. Beobachtung über die Sporenentleerung des Ahornunzelschorfs. Hedwigia., 27 (1888).

— Bemerkungen über Rhytisma acerinum. Bot. Zentralbl., 58 (1894).

b) PEZIZINEAE.

Sclerotinia.

Виды *Slerotinia* из группы *Stromatinia* превращают плоды в склероции (мумии), которые состоят частью из остатков ткани плода, частью из грибницы. Для получения сумчатых плодоношений — апотециев — надо положить эти склероции в песчаную почву в цветочных горшках, покрыть небольшим количеством торфяного мха и так оставить их на зиму. Некоторые склероции развивают апотеции иногда только после повторного перезимовывания. Аскоспоры заражают листья питающего растения. Чтобы произвести искусственное заражение, следует выдержать зрелые апотеции влажными в закрытой стеклянной банке в течение одного или нескольких дней и затем, вынув, стряхивают их над подопытным растением, так что аскоспоры тотчас же попадут на листья последнего. Само собою разумеется, что можно собрать споры на стеклянную пластинку и потом перенести их на растение в воде. После этого, как обычно, растения держат в течение нескольких дней под стеклянным колоколом. В результате заражения на листьях появляются сначала бурые пятна, а позднее на них появляются конидиеносцы, которые разрывают покровную ткань и отчленяют цепочки конидий. Конидии можно снять или кисточкой или иным способом и в целях искуственного заражения перенести на рыльце питающего растения, где они и прорастают. Прорастают

они наподобие зерен пыльцы и также направляют свои ростковые трубки к завязи, пронизывают ее и мумифицируют. При некоторых условиях гриб образует еще микроконидии, которые, повидимому, не имеют отношения к размножению и не могут быть использованы для заражения.

Изложенное выше относится в первую очередь к *Sclerotinia* видов *Vaccinium*, к *Sclerotinia urnula* на бруснике, *S. baccarum* на чернике, далее для *S. padi* и *S. aucupariae*; все они были предметом тщательных отдельных работ Воронина (1888, 1895). *Sclerotinia heteroica* отличается сменой хозяев: плодовые мумии — на Ledum palustre, конидиальные ложа — на листьях Vaccinium uliginosum (Воронин и Навашин). У других видов, как *S. alni*, конидиальные цепочки отсутствуют. У *S. cinerea* (*Monilia cinerea*) апотеции наблюдаются редко. На мицелии, убившем побег, после зимнего покоя образуются ложа конидиальных цепочек, спорами с которых можно заразить цветы (рыльца). Грибница в этих случаях проникает в побег через листовой черешок. Конидии *Moniliafructigena*, принадлежащие к *Sclerotinia fructigena*, заражают различные виды плодов, если их ввести под верхнюю кожицу плода (Воронин, 1900, Руланд — Ruhland и Адерхольд, 1905).

Склероции подвида *Eusclerotinia* возникают в ткани листьев и стеблей и, повидимому, всегда без участия этих тканей. Конидии образуются в форме микроконидий, которые не прорастают и в размножении роли не играют. Заражение может произойти только при помощи аскоспор, которые сами выбрасываются из перитециев, возникших после зимнего покоя, или же за счет грибницы, которая, повидимому, может развиваться непосредственно из склероциев. Опыты прежних исследователей неясны отчасти потому, что *Botrytis cinerea* принимали за конидиальную стадию *Eusclerotinia*, и опыты с аскоспорами не были отграничены от опытов с конидиями. Предположение де-Бари (1866), что *Botrytis cinerea* принадлежит к *Sclerotinia Fuckeliana*, ничем не доказано и, очевидно, ошибочно; утверждения же Франка (1880, 1896), что конидии *Botrytis* принадлежат также к *Sclerotinia Libertiana*, оспаривались уже самим же де-Бари. Об опытах с *Botrytis* будет сообщено в главе *Fungi imperfect.*

Ростковые трубки аскоспор *Sclerotinia trifoliorum* способны, согласно Колеману (Coleman), проникать в проростки клевера непосредственно через кожицу. Впрочем, кажется, у аскоспор скле-

ротиний отсутствует способность непосредственно поражать живые ткани. Это наблюдал уже де-Бари у *Sclerotinia Libertiana*. Зато они легко прорастают в питательных растворах, напр. отваре листьев, фруктов (виноградное сусло), свеклы, также на хлебе и т. д., и если в этом случае развившуюся грибницу перенести на питающее растение или же, если она достаточно сильна, поместить ее вблизи растения, то произойдет заражение. Проростки Petunia violacea, которые де-Бари держал в воде со спорами, оставались здоровыми, но были слегка заражены в тех случаях, когда к этой воде добавляли немного питательного раствора. Споры, нанесенные на поверхность среза здоровой моркови, не производят заражения, но гриб развивается и проникает в здоровые части, если поверхность среза была убита погружением его в горячую воду. Де-Бари предполагает, что гриб выделяет фермент, который умерщвляет клетки питающего растения, растворяет оболочки и делает возможным проникание его в мертвую ткань. Эта способность довольно отчетливо проявляется после того, как мицелий окрепнет. На воле (в природе) споры развиваются на органических остатках почвы и потом поражают растения. От одного пораженного растения грибница может перейти на соседние растения. Субстратом для этого гриба могут служить корни Brassica, Daucus, Beta, Cichorium, Apium, на которых этот гриб сильно развивается во время их зимнего хранения в погребах, а кроме того стебли многих двудольных, как Phaseolus, Helianthus, Lycopersicum и некоторые другие.

Согласно указаниям Ваккера (Wakker, 1887) заражение гиацинтов аскоспорами *Sclerotinia bulborum* удается только в исключительных случаях. Автор сам безрезультатно пытался заражать надземные части гиацинтов при помощи „самовыбрасывающихся“ спор из чашеобразных плодоношений и точно также не получил никакого видимого результата на надземных частях Anemone tuberosa после того, как на них попали споры, выброшенные из апотециев *Sclerotinia tuberosae*. Зато гиацинты легко заражаются, если в почву, в которой осенью были пересажены луковицы, внести один склероций; позднее почва вся бывает пронизана грибом (Клебан, 1906; ср. Ваккер, 1887). Очевидно, из склероциев вырастала грибница, которая и нападала на луковицы, так как в этих условиях чашевидные плодоношения не могли образоваться.

Dasyscypha.

Dasyscypha Willkommii является причиной болезни рака у лиственниц (Larix europea). Грибница живет в коре и убивает камбий. На пораженных местах образование древесины останавливается, между тем как на соседних с ними здоровых местах ствола образование древесины усиливается. Каждый год паразит захватывает все бо́льшую площадь камбиального кольца, так что рана от рака в течение года увеличивается и в конце концов обнимает всю окружность ветви или ствола, вследствие чего последний гибнет. Что гриб является причиной болезни, было подтверждено Гартигом (1880) опытами искусственного заражения. В конце июня он брал маленький кусочек коры, пораженной раком, вырезывал в коре здоровой лиственницы соответствующее величине и форме кусочка гнездо и вкладывал в него „больной“ кусок; одновременно, для контроля, на другом месте той же лиственницы прививали кусок здоровой коры. Раны завязывались, но как — подробнее не описывается. Спустя год повязка снималась и там, где был вложен кусок „больной“ коры, находили образование рака величиной с монету в 50 коп., между тем как то место, куда был вставлен здоровый кусочек, зажило. На мертвой коре найдены были молодые зачатки плодовых лож. Этот опыт повторялся несколько раз с тем же успехом.

В природе заражение происходит при помощи спор. *Dasyscypha Willkommii* образует чашеобразные плодовые тела (апотеции), споры которых выбрасываются сами. До того как эти чашеобразные плодовые тела созреют, на валиках, на которых они возникают, образуются крошечные спермациеобразные конидии. Кажется, они вполне способны прорастать. Аскоспоры легко прорастают, и Гартиг (1880), очевидно, ставил свои опыты искусственного заражения с ними. Его данные относительно этих опытов очень скудны: он не указывает, ни каким путем получены были споры, ни как он их переносил, и ничего не сообщает ни о сроке, ни о длительности опыта. Исследователь ограничивается указанием, что опыты на неповрежденной коре дали отрицательные результаты; точно также результаты были отрицательны, когда переносили грибницу с больной коры на здоровые иглы. Наоборот, всякое заражение, производимое на поврежденной коре, было успешным. Автор описывает насекомых и метеорологические условия, которые играют роль в возникновении естественных поранений.

Pseudopeziza, Entomopeziza, Fabraea.

Причиной целого ряда болезней, обусловливающих пятнистность листьев, как это было установлено в последнее время, являются конидиальные формы некоторых дискомицетов, принадлежащие к родам *Pseudopeziza* и *Entomopeziza* (Клебан, II, 1906, III, 1908).

Летом на пятнах зеленых листьев появляются конидиальные ложа грибов, которые до сих пор причисляли к родам *Glocosporium, Marssonina* и *Entomosporium*. Они сильно размножаются и распространяют болезнь. Если пораженные листья оставить перезимовать, то весной на них находят чашеобразные плодоношения. Наличие их на листьях, прежде пораженных конидиальной стадией, дает указание на связь этих форм между собой, но ее не доказывает. Для этого требуются опыты искусственного заражения вместе с изучением чистых культур.

Затруднение, которое надо преодолеть при постановке опытов, состоит в подготовлении обильного и хорошего запаса чашевидных плодоношений. Хотя автор при всех своих опытах и получал чашевидные плодоношения, но только на незначительной части материала и только при одном опыте, между тем желательно их иметь и при повторных опытах. Обычно в начале апреля автор вносил листья в комнату и высушивал. Затем, в зависимости от надобности, часть этих листьев он опять размачивал в воде и помещал во влажную камеру, чтобы вызвать образование апотециев. Плодоношения появлялись обыкновенно спустя несколько дней. Во многих случаях они не развивались, и чаще всего не удавались на других листьях взятых позднее из того же образца, который уже дал апотеции. Так как все листья в течение зимы сохранялись в одинаковых условиях, то можно предположить, что на образование апотециев оказывает влияние более или менее продолжительное пребывание в сухом состоянии, после того как их внесли в комнату, или более или менее раннее размачивание этих листьев. Поэтому для будущих опытов советуют испытать какие будут результаты, если листья совсем не высушивать или их оставить сухими в течение разных сроков перед их размачиванием.

Если на перезимовавших листьях имеются хорошие чашковидные плодоношения, то само по себе искусственное заражение питающего растения не представляет никаких особых затруднений.

Так как вопрос шел о совсем неизвестных до сих пор взаимоотношениях, автор обыкновенно ставил свои опыты параллельно тремя методами, чтобы иметь полнейшую уверенность в полученных результатах.

Первый метод состоял в том, что автор поддевал концом острого ножа один единственный апотеций, раздавливал его на уголке маленького предметного стеклышка, исследовал под микроскопом и затем смывал с предметного стекла на определенное место листа. Микроскопическое исследование необходимо, так как обнаружилось, что на перезимовавших листьях на-ряду с апотециями сохраняются тоже конидиальные ложа, которые можно отличить от апотециев только под микроскопом, т.-е. после того как будет обнаружено, содержат ли они одни сумки со спорами или аскоспоры и конидии. По этой же причине нельзя ограничиваться одним или немногими опытами, а необходимо поставить большое число параллельных опытов, так как можно предположить, что именно конидии, рассеянные по зимовавшему листу и которые сохранились на поверхности апотециев, а не аскоспоры, могли вызвать заражение. Далее — находящиеся в сумках аскоспоры могут оказаться не зрелыми.

Некоторое изменение этого метода состоит в том, что многочисленные апотеции, после того как их сняли и проверяли под микроскопом, собирают все вместе, раздавливают и после новой проверки переносят кисточкой или из пульверизатора на листья подопытного растения. Более изящный и удобный метод работы состоит в том, что листья, покрытые апотециями, помещают на сетке над частями растения, приготовленного для заражения, и оставляют их медленно высыхать; споры при этом выбрасываются сами. После этого растение, как обычно, оставляют несколько дней под колоколом. Теоретически при этом способе существует опасность, что во всяком случае на листья попадут конидии или посторонние споры. Но практически эта опасность едва ли существует или она очень незначительна. Кажется, что конидии не выбрасываются, и автор лично никогда не находил конидий между выброшенными спорами. Ясно, что опыт должен быть поставлен так, чтоб между предназначенными для заражения листьями и разложенными над ними мертвыми листьями не было соприкосновения. Впрочем, при помощи наложения на листья маленьких кусочков покровных стекол есть возможность во всякое время проверить, свободны ли споры от конидий, и одновременно уста-

новить, что еще важнее, не примешаны ли к ним посторонние споры.

Этот последний случай автор должен был принять во внимание при своих опытах, когда он хотел заразить *Entomopeziza Soraueri* молодые груши. Затруднение в этом случае состояло в том, что были примешаны споры *Venturia pyrina*, которые микроскопически трудно отличить от спор *Entomopeziza*. Если опыты заслуживают доверия, то в результате заражения, произведенного последним способом, должны появиться обильные пятна, соответствующие количеству апотециев.

Контроль опытов путем искусственного заражения чистыми культурами во всяком случае желателеч. Для получения чистых культур автор сначала предполагал снимать споры, касаясь сумчатого слоя апотеция острой стерильной иглой, но установил, что поверхностный сумчатый слой очень загрязнен посторонними организмами, бактериями, почему получить чистые культуры этим путем очень трудно. По этой же причине не могут служить для получения чистых культур апотеции, раздавленные в капле воды. Для этой цели очень подходят споры, выбрасывающиеся сами собой. В этом случае надо, чтобы споры падали от возможно маленького кусочка листа непосредственно на подготовленный во влажных камерах агар. Если при исследовании обнаруживается, что споры смешаны (как в вышеупомянутом случае с *Entomosporium Soraueri*), то можно получить чистые культуры, вырезывая маленькие частички агара, содержащие только одну спору. Контролем правильности результатов искусственного заражения будет тождественность конидий, образовавшихся в чистых культурах, с теми, что при удачном опыте заражения на живом растении. Конидии не всегда образуются в чистых культурах, но у грибов, о которых теперь идет речь, это, кажется, происходит.

Заражение здоровых листьев конидиями гриба является простой задачей, если имеются листья, обильно покрытые чистыми конидиальными ложами. Зараженное растение оставляют день-два под стеклянным колоколом, а в случае, если употребляют срезанные листья, их кладут во влажные камеры и держат там до тех пор, пока не разовьются конидии. Если желают получить чистые культуры, их, почти совершенно чистые, снимают при помощи стерильного острого ножа или же при помощи кисточки смывают их с листа в воду. Таким образом получают очень обильный конидиальный материал, хотя всегда смешанный с посторонними

организмами. При заражении больших количеств подопытных растений, когда задачей опытов является определить специализацию гриба, последний метод будет самый подходящий и самый надежный, так как случайно примешанные посторонние организмы при известной внимательности можно заметить уже на листьях, с которых они были сняты, и не будут оказывать влияние на результат. Конидиальную массу распределяют при помощи пульверизатора по возможности равномерно по всем подопытным растениям и содержат растения как в то время, пока они находится под колоколом, так и позднее в возможно одинаковых условиях. При этом условии результаты опыта будут в полной мере сравнимы. Таким образом автор провел сравнительные опыты искусственного заражения с *Pseudopeziza ribis* на видах Ribes, с *P. populi albae* на видах Populus и с *Entomopeziza Sorauerí* на различных Pomaceae.

Pseudopeziza tracheiphila, по данным Мюллер-Тюргау (1903, 1913), является возбудителем болезни винограда, известной под названием краснухи.

Чистые культуры, полученные из кусочков ткани и из аскоспор, перенесенных на стерилизованные листья, дали апотеции. При помощи аскоспор, полученных из этих апотециев, были произведены успешные опыты заражения живых листьев. Мюллер-Тюргау (1908) оперировал таким образом: содержимое апотециев, вскрытых иглой, он переносил в каплю стерильной воды и все вместе на предназначенные для заражения листья. Зараженное место обводилось тушью. Здесь сумки выбрасывали свои споры, которые и прорастали. Вне сомнения выбрасывание спор можно использовать также и для прививок. Ростковые трубки пробуравливают эпидерму и проникают в сосуды, где преимущественно и развивается грибница. Проникание ростковых трубок можно наблюдать на отрезанных листьях. Но если желательно вызвать проявления болезни, то прививку (Impfung) следует производить на растущих растениях. Дальнейшего развития крошечных конидий, образование которых наблюдается как на пораженных листьях, так и на мертвом субстрате, до сих пор получено не было.

Cenangium.

Cenangium abietis — вредитель сосен, согласно Шварцу (F. Schwarz, 1895), убивает иглы и верхушки побегов. На пораженных частях вырастают апотеции в форме маленьких чернобурых чашек. Проникание гриба происходит не через раны, а не-

посредственно через нижнюю часть верхушечных почек; но это зависит от состояния гриба. В момент полной жизнедеятельности растение иммунно. Заражение происходит главным образом к концу зимнего покоя. Но эти заключения сделаны на основании наблюдения и не подтверждены опытами и культурами. Воглино (Voglino, 1910) сообщает свои опыты с *Cenangium populneum* на Populus canadensis. Путем заражения аскоспорами через поранения в коре он спустя 10 дней получил отмершее пятно, на котором возникали соответственные конидиальные ложа.

Dermatea.

Грибница *Dermatea carpinea* живет под корой белых буков и образует строму, на которой первоначально возникают конидии, а позднее апотеции. Вагнер (G. Wagner, 1896) переносил болезнь, вводя кусочки больной коры в кору здоровых деревьев, и деревья умирали в течение 4 лет. Точно также проявляют себя *Dermatea cinnamonea* на дубах, *D. prunastri* на сливах и др.

В качестве дополнения здесь можно упомянуть еще 2 рода, систематическое положение которых недостаточно ясно.

Яксон (Jackson, 1911—1912) назвал *Neofabraea malicorticis* сумчатую форму *Gloeosporium malicorticis* Колдлей (Cordley, 1900), который в Америке причиняет сильный вред яблоням. Заражение производилось образующей споры грибницей из чистых культур, которую вносили в раны на коре. Удавалось вызывать образование искусственного рака также при помощи спор *Gloeosporium*.

Plectodiscella veneta по данным Бёркхольдера (Burkholder, 1917) является сумчатой формой *Gloeosporium venetum* — вредителя Rubus occidentalis. Бёркхольдер получил чистые культуры из аскоспор. Конидиями, развившимися в культурах, он опрыскивал молодые, быстро растущие побеги 4 марта, а при втором опыте 15 апреля. Побеги 2 дня оставались под колоколом. Спустя 18 дней, а во втором случае 8 дней, выступили пурпуровые пятна, на которых позднее появились конидиальные ложа.

Aderhold A. und Ruhland W. Zur Kenntnis der Obstbaumsklerotinien. Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstw. a. Kais. Gesundh. Amt., 4 (1905).

Bary, A. de. Morphologie und Physiologie der Pilze. Leipzig 1866.

— Über einige Sklerotinien und Sklerotinienkrankheiten. Bot. Ztg., 44 (1886).

Burkholder W. H. The perfect stage of Gloeosporium venetum, Phytopath., 7 (1917).

Coleman L. C. Über Sclerotinia trifoliorum. Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstw. a. Kais. Gesundh.-Amt., 5 (1907).

Cordley A. B. Some observations on apple tree antracnose. Bot. Gaz., 30 (1900).

Frank B. Die Krankheiten der Pflanzen. 1 Aufl. Breslau 1880. 2 Aufl. 1896.

Hartig R. Die Lärchenkrankheiten, insbesondere der Lärchenkrebspilz. Unters. a. d. Forstbot. Inst. zu München, 1 (1880).

Jackson H. S. Apple tree antracnose. Biennial crop. pest and. hortic rep. Oregon. Agric. Exp. Station 1911/12. Publ., 1913.

Klebahn H. I. Weitere Untersuchungen über die Sklerotienkrankheiten der Zwiebelpflanzen. Jahrb. d. Hamb. wiss. Anstalten, 24, 3 Beih., 1906.

— II. Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., 16 (1906).

— III. Haupt- und Nebenfruchtformen der Ascomyceten. Leipzig 1918.

Müller-Thurgau H. Der rote Brenner des Weinstockes. Zentralbl. f. Bakt. (2), 10 (1903); 38 (1913).

Schwarz F. Die Erkrankung der Kiefern durch Cenangium abultis. Jena 1895.

Voglino P. I nemici del pioppo canadense disantena. Ann. della R. academia di agric. di Torino, 53 (1910).

Wagner. Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenparasiten. Zeitschr. für Pflanzenkrankh., 6 (1896).

Wakker J. H. Über die Infektion der Nährpflanzen durch parasitische Peziza (Sklerotinia) arten. Bot. Zentralbl., 29 (1887).

Woronin M. Über die Sklerotienkrankheit der Vaccinienbeeren. Mém. de l'ac. imp. de sc. de St. Pétersbourg. 36, № 6 (1888).

— Die Sklerotienkrankheit der gemeinen Traubenkirsche und der Eberesche. Mém. de l'ac. de sc. de St. Pétersb. 8. sér. 2, № 1 (1895.)

— Über Sclerotinia cinerea und Scl. fructigena. Mém. 8. ser. 10, № 5 (1900).

Woronin и Nawaschin. Sclerotinia heteroica. Zeitschr. für Pflanzenkrankh., 6 (1896).

7. Exoasceae.

Exoasceae — узко специализировавшиеся паразиты, цикл развития которых полностью проходит на живых частях питающего растения. Во многих случаях пораженные органы разбухают в студенистые массы, иногда возникают совсем мягкие новообразования, порой на ветвях начинается усиленное образование побегов (ведьмины метлы). Новообразования с самого же начала всегда содержат грибницу. Поэтому не подлежит сомнению, что здесь мы имеем поражение здоровых зеленых растений и что ростковые трубки спор обладают способностью непосредственно проникать в здоровые ткани через кожицу и устьица. Как, когда и на каких частях растения происходит заражение, невыяснено.

Вопрос усложняется тем, что часто грибница зимует в растении и что органы, в которых находится грибница, могут выходить из почек уже зараженными (Задебек, 1893); очевидно заражение происходит в другом месте, а не там, где болезнь обнаруживается позднее.

Споровые сумки возникают на поверхности пораженного органа в виде бархатистого белого или слабо окрашенного налета. Споры выбрасываются (де-Бари, 1864, Задебек, 1884). Большей частью уже в сумках они начинают размножаться и почкованием дают многочисленные конидии. Согласно указаниям Брефельда (1891) последние тоже выбрасываются. Влажный воздух способствует образованию конидий, засуха задерживает (Задебек, 1895).

Taphrina pruni была точно исследована еще де-Бари (1864). Гриб превращает сливы в так называемые кармашки, дутые сливы. Споры образуются на кармашках, как только последние вполне разовьются. Поэтому мало вероятно, чтобы цветы или молодые плоды были заражены снаружи. То обстоятельство, что грибницу можно проследить из черешка в ветвь, указывает на то, что грибница зимует в ветвях и что больные плоды развились из зараженных почек. Поэтому возникает вопрос, через какие части растения ростковые трубки спор внедряются внутрь растения. Исследований по этому вопросу нет.

Опыты искусственного заражения с Exoaseae пока ставил только Задебек (1890). Но его данные относительно метода опытов очень неполны. Он отмечает переход *Taphrina crataegi (Exoascus bullatus)* с боярышника на грушу. Заражение *Exoascus bullatus* прорастающими спорами можно легко проверить, если объектом опыта взять молодые почки, в первой стадии их развития. Дальше он продолжает: „Также у Alnus glutinosa удается доказать проникание спор в ткань молодых листьев и таким образом наблюдать развитие *Exoascus alni*“.

Относительно заражения Alnus glutinosa грибком *Taphrina Tosquinetti* (там обозначенного как *Exoascus alnitorquus)* Задебек (1884) сообщает следующее: „Исследование преследовало цель микроскопически проследить проникание ростковых трубок спор, что и удалось после многих неудачных попыток. Объектом были молодые почки, или, точнее, совсем молодые ростки. Удалось установить, что ростковые трубки ползут некоторое время по кутикуле, а потом проникают в стенку, которая разделяет две эпидермиальных клетки. Об искусственном заражении

в этом месте находим следующую заметку: при одном опыте в октябре посыпали спорами побеги ольхи, которую все лето предохраняли от заражения, и она оставалась здоровой, и теперь предоставили ее самой себе; в апреле следующего года на одном листе одного из молодых побегов было обнаружено заражение. Каким образом производилось „посыпание“ спорами--не сообщается. По утверждению Задебека те же результаты были получены с *Taphrina crataegi (T. bullata)* на Crataegus, между тем как тот же способ, что применялся при заражении ольхи, на ильме с *T. ulmi* не увенчался успехом.

Относительно искусственного заражения с *Taphrina epiphylla* на Alnus incana, при котором удалось получить ведьмины метлы, Задебек сообщает следующее относительно подготовки материала, посредством которого производил заражение. Побеги с больными листьями, но на которых сумчатые плодоношения еще не созрели, вносили в лабораторию, обрезывали под водой их нижние концы и ставили в воду, покрыв широким, сверху открытым колоколом. Под края колокола подставляли по 3 шашки — около 10 *см* высоты каждая, так что приток воздуха снизу был обеспечен. Спустя 1—2 дня сумки созревали. Необходимо следить, чтобы не было излишней влажности, иначе в сумках начнется образование конидий, а последние, по мнению Задебека, не обладают способностью образовывать ростковые трубки, которые бы проникали в растение. Поэтому, вероятно, собранный на воле зрелый грибной материал мало подходит для опытов, так как он содержит много конидий. Для опытов служили 2—3-летние вполне здоровые растения ольхи (Alnus incana), которые брали из питомника, а потом культивировали в горшках в оранжерее. Полученный вышеописанным способом зрелый споровый материал снимали с листьев (предварительно прокаленным) скальпелем и переносили непосредственно на подопытное растение на самые молодые почки, только что начавшие развиваться. Перед этим чешуйки почек и внешние листья предварительно немного раскрывали, так что споры попадали непосредственно внутрь почек. Зараженные почки отмечали. Время года, когда опыты ставились, не указано. Будто бы уже в этом же году в зараженных побегах наблюдали патологические изменения, но микроскопического исследования не производили. Следующим летом на 12 из 30 зараженных почек, развившихся в молодые побеги, „внешние признаки заражения отчетливо выступили“, так как на многих

листьях более или менее широко развились бело-серые выпуклины. На третий год листья трех побегов, на которых уже во втором году имелись признаки успешного заражения, в июне почти сплошь покрылись этими выпуклинами, сами же побеги приняли вид ведьминых метл. Дальнейшие опыты ставили от 9 до 11 июня 1887 г. на деревьях и кустарниках на воле.

Споровый материал получали тем же способом. Зараженные побеги для защиты их от дождя и других влияний вводили свободными концами в перевернутые бутылки из белого стекла, которые были укреплены на прочных шестах. Спустя 3—4 недели бутылки были удалены. О числе успешных опытов данных не имеется. У большинства побегов заражение ограничилось только несколькими листьями, между тем как в остальном побег остался здоровым. Но в некоторых случаях образовались ведьмины метлы.

Задебек (1893) тщетно пытался произвести заражение спорами таких видов, у которых или нет многолетней грибницы или она не найдена. Более точных данных нет. Этот факт непонятен, так как можно было бы предполагать, что сохранение этих видов обеспечивается исключительно этими спорами. Предположение, что споры или конидии могут перезимовывать, не теряя своей способности прорастать, едва ли можно допустить.

Относительно состояния грибницы во время зимнего покоя Задебек (1884) установил, что *Taphrina Tosquinetii* (у него обозначена как *alnitorquus*) на Alnus glutinosa находится всегда в самых молодых побегах, а осенью в самых молодых почках. Почки, образующиеся к концу каждого вегетационного периода, кажется, и будут местом перезимовывания грибницы.

На основании опытов из практики борьбы с грибными болезнями возникает вопрос о том, поскольку перезимовывание грибницы или новое заражение спорами обусловливают поражение новых мест. В то время как Задебек (1890) предполагал устранить болезнь у *Taphrina insititiae*, обрезывая те ветви, в которых перезимовывает грибница, и его опыты дали положительные результаты, Веллес (Wallace) и Ветцель (Whatzel, 1910) говорят, что обрезывание больных ветвей на персиках в отношении *Taphrina deformans* приносит мало пользы и что, напротив, единственно очень раннее (до того как листовые почки раскроются) опрыскивание сернокислой известью, медным купоросом или бордосской жидкостью дает удовлетворительный результат.

На этом основании они заключают, что молодые листья при раскрывании почек заражаются снаружи, и предполагают, что заражение происходит за счет спор, которые зимуют на чешуйках или между чешуйками почек и прорастают весной при наличии соответствующих внешних условий.

Чистые культуры как вспомогательное средство при опытах искусственного заражения использованы не были. Насколько культуры *Taphrina Tosquinetti* у Задебека были успешны, трудно установить; из его описания кажется, что он получал грибницу и, по крайней мере, начало образования спор, но этому противоречат более поздние определенные указания. У других видов грибница не развилась. Брефельд (1883) сеял в питательную среду споры *Taphrina Johansonii* (с Populus tremula) и *T. deformans* (с персиков) и нашел образование почкующих конидий, которое продолжалось, пока среда не истощилась, но грибница не развилась.

Относительно роли почкующих конидий имеются очень недостаточные сведения. Фиш (1885) утверждает, что он наблюдал проникание их ростковых трубок у *Taphrina Tosquinetii*. Задебек (1890) же, наоборот, утверждает, что почкующиеся конидии не обладают способностью „непосредственно развивать ростковые трубки, которые могли бы проникать в листья". Но это было бы странно, так как споры часто все прорастают в почкующие конидии.

В виде дополнения следует отметить, это Гейнрихер (Heinricher, 1905) в ботаническом саду в Инсбруке с успехом прививал на здоровые вишневые деревья ветви с „ведьмиными метлами". Интересно, что заражение переходило на соседние ветви.

Неясности, существующие относительно искусственного заражения у Exoasceae, заставили автора в последнее время поставить несколько опытов с *Taphrina Tosquinetii*. Подтверждается, что споры выбрасываются сами. Почкующие конидии, поскольку они были, также выбрасываются. На агаризованном салепе споры тотчас же начинают почковаться и превращаются в кучки дрожжеобразных конидий. Образования грибницы не было даже в намеке. На косом агаре поставленные осенью культуры размножались и поддерживались до весны и дальше. Прививки (Impfung) производились таким образом: развившиеся в культурах почкующиеся конидии автор размешивал в воде и кисточкой наносил на почки ольхи, которые культивировались в горшках; принимались

меры к тому, чтобы конидии по возможности попадали между молодыми. Автор предварительно сообщает, что значительная часть этих опытов были успешны. Но детали заражения требуют еще дальнейших исследований (Клебан, 1923).

Bary, A. de. Exoascus pruni und die Taschen und Narren der Pflaumenbäume. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze, Abh. d. Senckenberg. naturf. Ges., 5, 33 (1864).

Brefeld O. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. 5, Leipzig 1883. 9. Münster 1891.

Fisch C. Über die Pilzgattung Ascomyces. Bot. Ztg., 42, 33 (1885).

Heinricher E. Exoascus cerasi als günstiger Repräsentant hexenbesenbildender Pilze. Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstw., 3, 344 (1905).

Klebahn H. Infektionsversuche mit Taphrina Tosquinetti. Ber. d. deutsch. Bot. Ges., 41, 108. (1923).

Sadebeck. Über die Entwicklungsgeschichte der Pilzgattung Exoascus. Bot. Zeptralbl., 12, 179 (1882).

— Untersuchungen über die Pilzgattung Exoascus. Jahrb. d. Hamburger wiss. Anst., 1 (1884).

— Kritische Untersuchungen über die durch Taphrinaarten hervorgebrachten Baumkrankheiten. Jahrb. der Hamb. wiss. Anst., 8 (1890).

— Die parasitischen Exoasceen. Jahrb. d. Hamb. wiss. Anst., 10 (1893).

Wallace E. und Whetzel H. H. Peach leaf curl. Cornell. Univ. Agric. Exper. Station. Bull., 276 (1910).

C. BASIDIOMYCETES.

1. Ustilagineae.

Головневые получили свое название от черного или темного, состоящего из спор, порошка, в который превращаются у большинства видов самый мицелий, после того как достигнет высшей степени своего развития, или же пораженные органы питающего растения. Кроме спор, чаще всего шаровидных, иногда соединенных в многоклеточные аггрегаты, у некоторых видов развиваются конидии, в частности на ростковых трубках прорастающих спор. Некоторые виды образуют воздушные конидии на вздутиях, живых растений, вызванных грибком.

Все головневые — ярко выраженные паразиты; они тесно приспособлены к одному определенному виду или к видам близко родственным. Обнаруживаются они при созревании спор на определенных местах, например в завязи или тычинках цветка. Только в немногих случаях до сих пор удалось вызвать развитие головнового грибка на необычном для него питающем растении — летучая головня ячменя *(Ustilago nuda)* на пшенице (Ланг, 1917). Неко-

торые головневые указаны как паразиты большого числа хозяев, как, например, *Ustilago hypodytes, striiformis, violacea;* но вообще еще мало исследовано, насколько головневые специализировались на своих единственных хозяевах.

Несмотря на их определенно выраженный паразитизм, удалось вызвать развитие головни на искусственных средах (Брефельд). Те головневые, которые не дают на ростковых трубках спор (промицелий) конидий, не образуют их также и в чистых культурах, а развивают лишь только грибницу. Другие образуют на искусственных средах исключительно конидии, которые размножаются дрожжеобразным почкованием до тех пор, пока не истощится весь субстрат. Третьи развивают небольшую грибницу и большое количество конидий, и тогда на гифах, поднимающихся над субстратом, развиваются воздушные конидии, которые несколько отличаются от погруженных в раствор формой, а в остальном им равноценны. Полный цикл развития в искусственной культуре обычно не завершается, и в очень немногих случаях получались споровые образования.

Для опытов искусственного заражения с головневыми исходной точкой в большинстве случаев являются споры. Методы опытов в отдельных случаях бывают очень различны, в зависимости от способа прорастания спор, состояния органов и степени развития питающего растения, доступного заражению. Часто близко родственные виды ведут себя в отношении способа заражения очень различно, тогда как принадлежащие к разным родам могут проявлять себя одинаково, так что в общем каждый отдельный случай требует самостоятельной проверки.

a) ГОЛОВНЯ ЗЛАКОВ.

Внимание наблюдателей раньше всего было привлечено головней злаков. Для многих видов давно уже было известно, что в природе заражение происходит через споры, которые прилипают к зерну, и что заражение головней можно получить искусственно, если посыпать влажные семена спорами головни или же просто смешать их и высеять, или же, наконец, посеять семена в почву, к которой были обильно примешаны споры головни. Опыты такого рода производились уже Глейхен-Руссвурмом (Gleichen-Russwurm, 1781).

Позднее Кюн (1859), де-Бари (1863) и Гофман (Hoffmann, 1886) повторили их, расширили и доказали, что ростковые трубки

конидий (споридии), которые возникают на промицелии прорастающих спор, проникают в молодые проростки культуры.

Объектом для этих опытов были два вида каменной головни пшеницы — *Tilletia tritici* и *Tilletia laevis*. Метод заражения необыкновенно прост. Достаточно посыпать спорами головни семена и их высеять. Для большей уверенности семена можно предварительно смочить безвредной клейкой жидкостью — раствором сахара, гумми-арабиком и уже потом посыпать спорами. Таким путем получается очень высокий процент заражения головней. В чистой культуре каменная головня пшеницы образует воздушные конидии. О значении их для заражения пока ничего неизвестно.

Р. Вольф (R. Wolff, 1873 и 1874), производя опыты с *Urocystis occulta*, вызвал стеблевую головню ржи. Он нашел, что первый влагалищный лист, который первым выходит из плодовой оболочки семени, является единственным местом, куда проникают ростковые трубки головни. Если на этот лист, когда он достигнет половины своей нормальной длины, перенести проросшие споры головни с развившимися на них споридиями и держать культуру во влажной атмосфере, то спустя 36—48 часов можно видеть что ростковые трубки проникли в ткань листа и дали мицелий. Если растения, зараженные таким способом, после проверки (снять верхнюю кожицу и проверить под микроскопом) поставить в питательную среду (по методу водных культур) или же в почву и довести до зрелости, то головня появится спустя уже 8—9 недель на седьмом или восьмом листе и при высоте растения 0,4 метра. Более старые проростки, у которых зеленые листья успели выйти из влагалища, оказываются уже недоступными для заражения. В первичный корневый узел с толстой кожицей ростковые трубки не проникают, но они способны внедряться в побег на протяжении (8—10 *мм*) над первичным корневым узлом.

Кюн (1874 и 1876) описал опыты с *Ustilago „carbo“, destruens, Crameri, Tulasnei (=Tillettia sorghi), Rabenhorstiana, Tilletia laevis, Urocystis occulta* и др. Он нашел, что ростковые трубки, кроме первого влагалищного листа, могут проникать также в другие части молодого проростка, но в этих случаях заболевание не всегда бывает вызвано. Эти результаты потом неоднократно были подтверждены.

Методы.

Существенными успехами в знании цикла развития головневых и способов заражения мы обязаны Брефельду. Он первый указал, что головневые можно культивировать на искусственных средах, и с успехом применил чистые культуры для искусственного заражения. В качестве питательных сред Брефельд применял отвар навоза, слив или пивное сусло.

Для более надежного и более удобного получения чистых культур споровый материал, предназначенный для посева, должен содержаться в возможной чистоте. Так как головневые, в частности интересующая теперь нас головня злаков, появляются обычно в большом количестве, то в общем запастись чистым материалом нетрудно.

Для выделения головневых в чистую культуру Брефельд обыкновенно брал при помощи стерильной иглы некоторое (небольшое) количество спор в каплю питательной среды на стерильном предметном стеклышке. При этом методе лучше всего высевать споры тотчас же после их сбора и употреблять только те из них, которые еще были заключены в оболочки зерна и, таким образом, еще не могли загрязниться. Возможны случаи, когда, по требованиям опыта, споры необходимо бывает сохранять в течение некоторого времени; это требуется также в тех случаях, когда споры прорастают лишь после некоторого периода покоя. Однако в других случаях, когда споры бывают заключены в ткань питающего растения и освобождаются только после выветривания и сгнивания этой ткани, загрязнение их бывает неизбежно. Существует также опасность, что споры во время хранения будут повреждены насекомыми. Брефельд рекомендует следующий способ получения чистого материала и сохранения его до следующей весны для искусственного заражения. Споровый материал следует собирать в достаточном количестве вскоре после раскрытия ложа и раньше того, как какое-либо неблагоприятное обстоятельство могло оказать на него свое влияние, и сохранять его в течение недели в сухом месте. После этого споры просеивают через тонкое сито (настолько тонкое, чтобы оно пропускало только споры) на белую бумагу и наполняют ими большое количество маленьких колбочек с плоским дном, так чтобы они были наполнены не более как на $^1/_3$. Колбочки плотно закрывают стерилизованной бумагой и в течение зимы сохраняют в хо-

лодном сухом месте. Хранение во многих колбочках представляет то преимущество, что если в одной из них обнаружится какое-либо вредное влияние, остальные могут сохраниться. Весной, незадолго до употребления, споры промывают в стерильной воде и отделяют их на центрифуге. Быстро осаждающиеся споры оказываются почти вполне чистыми, и их можно использовать для культуры на питательных растворах с уверенностью, что в течение культивирования едва ли появится загрязнение. Однодневное предварительное выдерживание спор в воде усиливает их прорастание. Это будет полезно в тех случаях, когда для заражения употребляют не конидии, а самые споры, и особенно в тех случаях, когда споры не образуют конидий, а также когда опыты ставят со спорами, приспособленными для заражения цветов, и когда эти споры, сохраняясь в течение зимы, понижают свою всхожесть.

В тех случаях, когда споры головни должны пройти некоторый период покоя, совпадающий с перезимовыванием, этот метод надо изменить следующим образом: просеянные через сито споры очищают при помощи центрифуги; после этого их смешивают с простерилизованным стеклянным песком и оставляют в цветочном горшке на соответствующей подстилке поверх влажного чистого гравия. Горшок ставят в прохладном, достаточно освещенном помещении и поддерживают в нем влажность, поливая его снизу. Для того, чтобы предохранить споры от высыхания сверху, на расстоянии трех сантиметров от песку помещается сито с очищенным мохом, который также поддерживают во влажном состоянии. При этом методе легко установить момент наступления всхожести спор, отбирая время от времени пробы. Ясно, что все употребляемое должно быть по возможности стерилизовано и особенно вода для промывания. Относительно моха это не очень-то возможно, но, по всей вероятности, даже и не нужно. Для дальнейшего пользования спорами их отделяют от стеклянного песка путем отмучивания.

Как уже было указано выше, Брефельд высеивает споры в каплю питательного раствора на предметном стекле, помещает последнее на подставку под стеклянным колоколом и время от времени проверяет. Когда наступает обильное образование почкующихся конидий и когда чистота прорастающих спор бывает установлена, он переносит стерильной иглой некоторое количество конидий в эрленмейеровскую колбочку, наполненную на 0,5 *см* питательной средой, и закрывает стерилизованной

бумагой (колба со средой и бумагой должны быть заблаговременно простерилизованы). В питательном растворе после прививки замечается помутнение, которое достигает своей высшей точки на третий день и ведет к образованию настоящего осадка из конидий. Для целей искусственного заражения лучше всего брать конидии до наступления этого момента, так как в это время они бывают более всхожи и легче переносят в некоторых случаях разбавление питательной жидкости. Жидкость (питательный раствор) наносится на подопытное растение при помощи заблаговременно простерилизованного пульверизатора. Этот последний должен давать возможно мелкие капли, чтобы они легче прилипали к растению; содержание конидий в жидкости должно быть таково, чтобы даже в самых крошечных каплях имелись конидии.

Заражение проростков у злаков.

Брефельд (1895) первый применил метод заражения питающих растений при помощи конидий, выращенных в чистых культурах, на некоторых злаках, относительно которых уже прежними наблюдениями было установлено, что они заражаются в стадии молодых проростков. Проростки подготовляются одновременно с грибком, которым они будут заражаться. Семена предварительно тщательно очищаются, моются и в случае надобности протравливаются против приставших спор головни. Их оставляют в воде, пока они не разбухнут и не дадут ростков. Одинаково проросшие зерна отбираются, и каждые 100 размещаются рядами на некотором расстоянии друг от друга на влажной садовой земле и прикрываются стеклянными рамами, укрепленными на подпорках; таким образом поддерживается влажность. Потом молодые проростки опрыскиваются спорами гриба или тотчас же после их появления, или предварительно дают им более или менее развиться, чтобы иметь для заражения различные стадии. Этим методом можно иметь большое число проростков приблизительно равного развития. После опрыскивания конидиями растеньица остаются два-три дня под стеклянными рамами, потом их открывают и спустя 5—6 дней высаживают на открытом воздухе.

Вышеописанным методом можно заразить ячмень, овес, просо; ячмень—*Ustilago Jensenii*; овес—*Ustilago avenae*[1]) и *Ustilago laevis*;

[1]) Относительно заражения овса *Ustilago avenae* в природе *Zade* дает новые данные.

Sorghum saccharatum — *Ustilago cruenta;* Panicum miliaceum — *Ustilago panici miliacei (U. destruens);* Setaria italica — *Ustilago Crameri (U. setariae).* Результат заражения обнаруживается только в момент появления соцветий.

Только самые молодые стадии проростков доступны заражению. Как только первый зеленый лист выходит из влагалища, заражение уже невозможно. Но даже если заражаются достаточно молодые проростки, то только некоторый $^0/_0$ растений дает пораженные головней цветы. Опыты с головней овса на овсе дали от 17 до 25$^0/_0$ пораженных головней растений в том случае, если в момент заражения верхушки проростка только что появлялись от 7 до 10$^0/_0$, когда молодой побег достиг одного *см* длины, и только 2$^0/_0$, когда он достиг 2 *см.* У одновременно испытываемого ячменя, которому этот гриб не соответствует, заражения ни в одном случае не наблюдалось. Опыты с заражением *Ustilago cruenta* дали 72$^0/_0$ зараженных растений в том случае, когда оно производилось в соответствующий момент развития растения. Микроскопическим исследованием установлено, что молодые ростковые трубки гриба способны проникать в молодую ткань всюду, даже в корни, но заражение соцветий происходит только в тех случаях, когда гифам удается, проникая через быстро растущие ткани, достичь точки роста побега. Во всех остальных частях растения дальнейшее развитие грибка будет задержано.

На этих, вышеописанных, опытах основывается мнение Брефельда, что на открытом воздухе заражение злаков могут произвести также конидии, которые образуются на спорах, попавших в почву и развивающихся там на органических веществах. В доказательство этого Брефельд составлял смесь из свежего конского навоза с садовой землей и прибавлял к ней споры головни. Смесь стояла в течение 3 дней, а затем в нее высевались предварительно размоченные и протравленные семена овса. В таком случае получалось сильное заражение, и количество пораженных головней растений доходило до 46$^0/_0$. Этим наблюдениям противоречат опыты Тюбефа (1902), который доказывает, что споры головни не могут жить сапрофитически долгое время и что опасность заражения спорами, находящимися в почве, быстро проходит. Точно также и свежий помет животных, к которому были примешаны споры головни, не вызвал заражения семян, одновременно и вместе с смесью внесенных в почву.

Ввиду того, что при заражении проростков всегда получается

только некоторая часть пораженных головней растений, можно предположить, что в большинстве случаев растения бывают заражены, но гриб не успевает достичь точки роста. Микроскопические исследования устанавливают в этих случаях наличие грибницы в узлах соломы. У растений Sorghum saccharatum, которые были заражены головней и остались непораженными, Брефельду удалось вызвать проявление головни после того, как он обрезал зараженные растения до $^2/_3$. Тогда на зараженных узлах вырастали боковые, пораженные головней, побеги.

Сплошное заражение проса и других злаков можно получить, пользуясь старым семенным материалом, так как в этом случае прорастание и развитие будет так задержано, что гриб имеет достаточно времени, чтобы достигнуть верхушки побега. Подобные опыты с ячменем не дали значительного результата.

В более поздних опытах с *Ustilago panici miliacei* и *Crameri* Брефельд употреблял для заражения или конидии из чистых культур, сохранявшихся в течение зимы вышеуказанным способом, или же непосредственно споры, очищенные на центрифуге и после того, как они предварительно были выдержаны один день в разбавленном питательном растворе. В этом случае заражение достигало 60—70%, а иногда и выше. Просо (Panicum miliaceum) рекомендуется как особо подходящий объект для опытов.

Головня кукурузы.

В своих исследованиях над головней кукурузы (*Ustilago zeae*=*U. maydis*) Брефельд нашел значительное различие и для искусственного заражения должен был применить значительно измененный метод. Развитие головни на питательных растворах сходно с головней овса; точно также на промицелии прорастающих спор образуются конидии, которые сильно почкуются. Различие будет только в том отношении, что кроме этих, погруженных в раствор, конидий развиваются в довольно большом количестве еще воздушные конидии; последние немного меньше и выступают над поверхностью жидкости.

Брефельд производил искусственное заражение проростков кукурузы почкующими конидиями так же, как это делалось для овса. Результаты были существенно иные. Проникание ростковых трубок хотя микроскопически и было установлено, но только на отдельных местах корневого узла, а не на влагалищном листе. Приблизительно 40% растений заболело спустя 10—14 дней и,

как это уже раньше наблюдал Кюн (1874), заражая кукурузу спорами, появились головневые вздутия внизу стебля несколько выше корневой шейки. Остальные растения остались вполне здоровыми. Заражение проростка может не сопровождаться поражением соцветия. Такой же результат был получен, когда молодые проростки или семена высаживали в почву, зараженную почкующимися конидиями.

Попытки заражать молодые растения кукурузы путем наружного опрыскивания их спорами грибка оказались тщетными. Наблюдение над развитием кукурузы навело на метод, который позволяет легко осуществить сильное заражение соцветия и др. органов. Приблизительно в середине июня у постепенно крепнувших растений между обыкновенными свернутыми в трубку листьями обнаруживается открытая снаружи трубка, дающая свободный доступ внутрь растения к растущей верхушке стебля. Через эту-то трубку Брефельд вводил туда при помощи шприца с длинной тонкой шейкой питательный раствор, содержащий конидии. Жидкость из трубки постепенно всасывалась капиллярно между молодыми зачаточными листьями. У такого растения, взятого на пробу, через продольный разрез можно было установить наличие спор между входящими друг в друга листьями вплоть до самого конуса нарастания. Вытекание жидкости наблюдалось только в отдельных случаях.

В течение пяти дней растение предохранялось от дождя соломенными рогожами. Спустя 10 дней после заражения между выступавшими листьями появлялись бледно окрашенные пятна, на которых постепенно развивались головневые вздутия; подобные же вздутия появлялись и на междуузлиях стебля и на мужских соцветиях и в таком же изобилии, как это наблюдается при нормальных условиях. Результат был самый необыкновенный. Разница в степени поражения обнаружилась лишь только у старых растений. Более молодые растения, которых заражали указанным образом, иногда поражались настолько сильно, что погибали.

Женские соцветия, которые последними выходят из пазухи нижних листьев уже взрослых растений, этим способом не заражались, в то время как в природе именно на женских соцветиях головня проявляется в первую очередь. Заражение их удалось вызвать нижеследующим образом. Для этих опытов рекомендуется проращивать семена уже в конце марта с тем, чтобы, как только это окажется возможным, высадить молодые растеньица на открытый

воздух. Это необходимо для того, чтобы иметь хорошо развившиеся початки еще до окончания вегетационного сезона. Уже в середине июля у таких культур в листовых влагалищах появляются сильные вздутия, вызванные образованием женских початков. Как только развитие последних достигает того момента, когда плотно примыкающие к стеблю язычки листового влагалища открываются, благодаря чему образуются необходимое для введения заразного начала отверстие, туда вводится при помощи шприца культура с конидиями. Все опыты были успешны. Спустя 10 дней возникшие головные вздутия были видны через разрыв листового влагалища, а еще спустя 8 дней все вздутие початка образовывало одну сплошную массу. Заражение возможно произвести еще в то время, когда початки своими длинными рыльцами начинают выходить наружу. К этому времени листовое влагалище обыкновенно настолько раскрывается, что через щель бывают видны отдельные завязи женского соцветия. Тогда Брефельд открывал листовое влагалище еще шире, так что все соцветие становилось доступным для заражения, и вводил туда при помощи пульверизатора питательную жидкость, содержащую конидии. После этого листовому влагалищу придавали первоначальное положение, и оно могло служить защитной оболочкой. Результатом этих опытов было образование вздутий на отдельных завязях, величиною с орех или виноградную ягоду. При этом способе можно ограничиться заражением нескольких, немногих завязей и таким образом показать, что заражение бывает чисто местное и что грибница развивается лишь только вблизи места прививки. Рыльца, заражение которых при этом бывает неизбежно, не обнаруживают никаких болезненных явлений, но могут быть поражены в том случае, если их заражение произвести в более ранней стадии. Когда завязи достигают половины их развития, заражение их уже невозможно.

Наконец, есть еще одна возможность заразить молодые ткани кукурузы, — это через большие придаточные корни, которые кольцом закладываются несколько ниже оснований нижних листьев вокруг стебля у самой почвы и которые в этот момент состоят из молодых тканей. Обыкновенно эти корни тотчас же проникают в почву и таким образом становятся недоступными заражению. Брефельд выбирал для опытов только что появляющиеся над почвой корешки и заражал их при помощи пульверизатора. От дождя молодые ростки охраняют чехликом из пергаментной бумаги,

который плотно привязывается к оси растения, и свободно накрывают подопытные корни. Результат был положительный. Этим приемом можно проверить способность других видов головни заражать кукурузу. Споры головни проса и головни овса хотя и способны развивать на растениях кукурузы ростковые трубки повсюду в достаточно молодой ткани, но не вызывают образования головневых вздутий. Проникание ростковых трубок еще не служит доказательством того, что растение действительно было заражено.

Равичер (F. Ravitscher, 1912) не получил тех же результатов, впрыскивая почкующиеся конидии через „трубку", но наблюдал заражение в тех случаях, когда делал прорез снаружи вплоть до точки роста, и туда вводил для прививки несколько капель жидкости с конидиями.

Согласно опытам американских фитопатологов, восприимчивость кукурузы к головне повышается в зависимости от повреждений (поранений). Стебли растущей на открытом воздухе кукурузы скоблили куском сломанного буравчика и на поврежденное место прививали споры головни, а для контроля результатов прививали споры также на соответствующие неповрежденные места стебля. Поврежденные растения дали более высокий процент поражения (15% против 9,7%), при чем 34% пораженных головней мест соответствовали поранениям или же находились вблизи них (до 6 дюйм. над ними). (Келлерман — Kellermann и Иеннингс — Iennings, 1902).

Опыты заражения, проведенные Брефельдом, слишком искусственны и никоим образом не соответствуют процессу естественного заражения. Это последнее, по мнению Брефельда, происходит при помощи воздушных конидий, которые образуются из спор, попавших в почву и развивающихся там за счет органических веществ (удобрения и т. д.). Для обоснования своего предположения Брефельд ставил следующие опыты. Он смешивал споры головни с перегноем и осторожно рассыпал эту смесь на грядках между молодыми кукурузными растениями, которые к этому моменту развили свой влагалищный лист на 3—5 *см* и, значит, были уже восприимчивы. Затем добавлял тонкий слой лошадиного навоза и все это смешивал лопатой с перегноем и почвой. Поскольку естественной влажности было недостаточно и не было дождя, почву поливали. Спустя несколько недель головня появилась на тех именно растениях, которые произрастали на почве, зараженной спорами.

Такие же результаты получали в том случае, когда „головневый очаг“ устраивали на некотором расстоянии от грядок кукурузы, но принимали во внимание преобладающее направление ветра.

Заражение цветка.

Третья группа головневых в отношении заражения значительно отклоняется от двух рассмотренных прежде. Попытки заразить спорами корни или проростки этой группы не дали положительного результата. Использование конидий невозможно, так как ни в воде, ни в питательных растворах споры не дают конидий и образуют лишь ростковые трубки или мицелий. Обычное протравливание семян не предохраняет растения от поражения этой головней. Это указывает на присутствие заразного начала внутри семени, куда действие протравливающих веществ не проникает. Брефельд разрешил эту загадку и показал, что заражаются завязи цветов и что из этих зараженных завязей развиваются семена, которые при посеве дают больные головней растения.

Созревание спор этих головневых происходит, в связи с их способностью заражать цветы, как раз ко времени цветения питающих их растений; тогда же происходит и их рассеивание (летучая головня). Между тем у видов головни, приспособленных к заражению проростков, споры созревают позднее или же, по крайней мере, бывают дольше заключены в том органе, в котором возникают. Микроскопическими исследованиями было установлено, что в семенах из зараженных завязей находится грибница; ее находят во внешних слоях эндосперма, в скутеллюме — здесь она особенно богато развита — и в зародыше (Хекке — Hecke, 1905; Ланг — W. Lang, 1909; Бруали и Шикора — Broili и Schikora, 1913).

В природе головневые споры переносятся на цветы при помощи ветра, и заражение цветов обусловливается случайностью, почему обычно бывает поражена только некоторая часть цветов растения. Задачей исследователя является произвести успешное заражение возможно большего количества цветов и найти способ с возможно большей уверенностью наносить споры головни на цветы, не нарушая при этом развития семени. Так как обыкновенно цветет одновременно только одна часть соцветия, то в каждый данный момент может быть заражена только эта цветущая часть. Если дело идет о том, чтобы собрать только зараженные се-

мена, то цветы, подвергшиеся прививке, должны быть отмечены а незараженные—удалены. Для того, чтобы нанести споры на соцветия, прибегают к различным способам. Иногда соцветия вводят в цилиндр (или обыкновенное ламповое стекло), нижнее отверстие которого закрывают пробкой из ваты, а споры насыпают через верхнее отверстие. Иногда для той же цели служит резиновый шар, в который вводят заражаемое соцветие и отверстие которого затем закрывают полой пробкой, соединенной с трубкой, через которую и вдувают в шар споры. После того как споры осядут, соцветие освобождают. Пробные опыты доказали, что споры действительно попадают в цветы. Этим способом Брефельда может быть заражена только небольшая часть цветов. Для того, чтобы увеличить количество зараженных семян, пытаются наносить споры на цветущее или зацветающее растение кисточкой. При этом дело идет все-таки о некоторой „неестественной" операции, так как приходится раскрывать немного цветы. Если опыт проделан с надлежащей тщательностью и все незараженные цветы были удалены, то почти все собранные семена можно будет считать зараженными. Споры по возможности должны быть свежие, только что принесенные с поля. Лишне подчеркивать, что все соцветия, которым производили прививку, должны быть отмечены, чтобы их можно было потом опознать, особенно если опыты производят на открытом воздухе. Чтобы быть вполне уверенным, что причиной заражения не были приставшие снаружи споры головни, семена перед посевом протравливают. Посев производят в стерильный песок (Брефельд употреблял стеклянный порошок). Чтобы избежать постороннего заражения в первых стадиях развития, проростки покрывают, пока у них влагалищный лист не вырос приблизительно до двух *см.* Затем растеньица высаживаются в горшки или на волю. Заражение через цветы происходит у *Ustilago tritici* на пшенице и *Ustilago nuda* на ячмене. Брефельду искусственным путем удалось получить для пшеницы заражение семян до 96% и у ячменя, у которого заражение идет труднее, до 70%. Заражение летучей головней овса идет иначе (см. метод Бруали, 1910).

Чтобы доказать, что заражение летучей головней у ячменя и пшеницы происходит через цветы, а не через проростки, необходимо поставить опыты искусственного заражения последних. Так как у этих видов летучей головни конидий не образуется, то заражение возможно только спорами, а так как эти последние со-

зревают ко времени цветения, то их необходимо сохранять до следующей весны.

Далее нужны опыты с почвой, зараженной спорами головни. Для этой цели смешивают компостную землю или конский навоз со спорами летучей головни (почва и навоз предварительно стерилизуются) и высеивают в эту смесь подопытные семена или тотчас или же предварительно держат эту смесь во влажном состоянии при 6—8° С в течение нескольких дней. Поставленные таким образом опыты Брефельда с *Ustilago tritici* и *Ustilago nuda* говорят против того, чтобы заражение этими видами головни проростков было возможно. Появление отдельных растений, пораженных головней во время опыта, можно объяснить тем, что семена не были предварительно освобождены от мицелия грибка, так как в то время способы борьбы с заразным началом, находящимся внутри семян, еще не были известны.

В будущем для того, чтобы быть уверенным, что грибница, находящаяся внутри семян, не может помешать опыту, семенной материал предварительно обрабатывают методом прогревания (Аппель, 1910).

b) ДРУГИЕ ГОЛОВНЕВЫЕ ГРИБЫ.

С другими головневыми, кроме головни злаков, опытов искусственного заражения было поставлено мало. Только Шрётер (1877) сообщает некоторые данные о прорастании спор. Следует предположить, что большинство этих грибов, именно те, которые принадлежат к родам *Ustilago, Urocystis* и *Tilletia,* проявляют себя более или менее схоже и что поэтому к ним могут быть применены те же методы заражения. Заражение *Ustilago striaeformis,* живущего на листьях различных трав, происходит, согласно Оснеру (Osner, 1916), через цветы. Виды *Entyloma, Tuburcinia, Doassantia, Graphiola* сильно отличаются; относительно развития других родов, как *Schizonella, Sorosporium, Tolyposporium,* почти ничего неизвестно. Поэтому методы искусственного заражения должны быть испробованы для каждого отдельного вида. Благодаря работам Брефельда нам известно время прорастания спор большинства головневых грибов. Это обстоятельство дает возможность направить исследование способов заражения по известному пути, но не позволяет заранее вывести заключение о способе заражения ими, как это указывает пример головни

кукурузы. Подробности немногих опытов будут указаны при соответствующих грибах.

Ustilago violacea (U. antherarum) встречается на Melandryum album и других Caryophyllaceae исключительно в тычинках и поражает все цветы больного растения. Это последнее обстоятельство указывает на то, что заражено бывает все растение и что заражение происходит в очень ранней стадии развития питающего растения. Как пораженные, так и здоровые цветы Melandryum album открываются к вечеру, когда их посещают бабочки. Так как споры головни подобно пыльце растений, опыляемых насекомыми, немного клейки, то они переносятся бабочками на завязи и рыльца соседних растений Melandryum album и здесь прорастают в выделениях рыльца и нектарников. Самый простой способ произвести заражение состоит в том, чтобы выращивать рядом женские и пораженные мужские растения и предоставить бабочкам перенос пыльцы. Если желательно произвести заражение лично, то с этой целью можно воспользоваться кисточкой. Культивировать растения рекомендуют в горшках или, по крайней мере, в саду, чтобы постоянно иметь за ними наблюдение. Брефельд проделал такого рода опыты и среди собранных семян, которые, несмотря на принятые предохранительные меры, были сильно повреждены насекомыми, и нашел до 20% таких, которые, невзирая на последующее внешнее протравливание, дали при посеве зараженные головней растения.

Спорадически у Melandryum album попадаются двуполые цветы, пыльники которых всегда бывают заражены головней. Предполагают, что развитие этих пыльников было вызвано влиянием грибка.

Хекке (1907) в противоречие Брефельду утверждает, что семена, развившиеся после заражения женского цветка, дали здоровые растения и что, наоборот, заражение проростков дало положительные результаты. Верт (Werth, 1909) предпринял повторные опыты с заражением цветков в оранжерее, изолируя их при помощи стеклянных колоколов. Во время опытов на рыльце женского цветка одновременно наносили пыльцу растений и споры головни. Когда на одном растении были заражены первые раскрывшиеся цветы, то более поздние цветы оказались уже зараженными. Их завязи были малы, а тычинки оказались наполненными головневыми спорами. Непосредственно же зараженные цветы дали здоровые семена.

Новый способ заражения для Melandryum album был установлен Хекке и состоит в заражении побега. Молодые двухлетние растения, выращенные из семян в горшках, обрезывали в октябре вплоть у корневой шейки. Затем корневую шейку посыпали спорами головни и закрывали компостной землей, смешанной со спорами. Спустя несколько недель появлялись новые побеги, которые в мае следующего года начинали цвести и давали пораженные цветы. Такой же результат был получен с *Urocystis occulta* на Secale montanum.

Sphacelotheca hydropiperis и родственные виды дают темнофиолетовые споры в завязях видов Polygonum. С формой, живущей на Polygonum viviparum и обозначенной Шелленбергом (1907) как *Sphacelotheca polygoni vivipari,* указанный автор произвел опыты, в которых прививал споры на луковицы, которые возникают в соцветиях хозяина-растения и при развитии которых ростковые трубки конидий могут проникать в их ткань, а также молодые побеги луковиц. Этим, повидимому, указывается путь, которым можно произвести заражение и, может быть, каким оно происходит в природе. Точных данных об опытах нет.

Де-Бари (1874) удалось заражать грибком *Entyloma microsporum (= E. Ungerianum)* как совсем молодые, так и более развившиеся листья Ranunculus repens. Начавшие прорастать споры он переносил в капле воды на верхнюю или нижнюю поверхность листа, после чего в течение некоторого времени растение держали во влажном месте. Спустя 11—14 дней появлялись характерные вздутия. Чтобы иметь прорастающие споры, эти вздутия вскрывали в воде, и споры образовывали спустя 24 часа подобно роду *Tilletia* ростковые трубки с конъюгирующими споридиями.

Точно так же проявляет себя *Entyloma calendulae.* Об образовании конидий на поверхности пораженных частей де-Бари не упоминает.

Entyloma ranunculi поражает листья Ranunculus Ficaria и образует белые пятна. При соответствующей влажности воздуха через устьица выходят пучки гиф живущей в мезофиле грибницы, и на этих гифах образуются веретенообразные конидии. С ними Маршаль Уард (H. Marshall Ward) с успехом производил следующие опыты: с пятна, на котором находились в изобилии конидии, он снимал эти последние чистой кисточкой или иглой и наносил их в каплю росы или воды на листьях Ranunculus Ficaria. После прививки растение покрывали стеклянным колоколом,

а капли — влажными камерами. В межклетных пространствах искусственно вызванных пятен возникают покоящиеся споры, принадлежность которых к *Entyloma* таким образом была доказана. Покоящиеся споры прорастают спустя несколько месяцев и образуют ростковые трубки со споридиями, которые проявляют себя как конидии. Опытов искусственного заражения при их помощи не ставили. Брефельд получил из этих конидий чистые культуры, но опытов искусственного заражения с ними также не ставил.

Род *Tuburcinia* образует кроме возникающих в ткани и соединенных в аггрегаты бурых спор еще бесцветные конидии, которые развиваются на конидиеносцах и прорывают кожицу пораженного органа. М. Воронин (1882) переносил осенью прорастающие (бурые) споры *Tuburcinia trientalis* на молодые побеги Trientalis europea, которые потом были прикрыты тонким слоем почвы, и на следующий год весной получил на развившихся листьях конидиальные ложа. Далее он переносил соскобленные конидии на смоченную поверхность здоровых листьев и в их тканях спустя 12—20 дней он находил бурые споровые ложа. Кюн (1892) ставил опыты с *Tuburcinia primulicola* на Primula officinalis. Во внутренних частях цветка, именно в пыльниках, он находил конидии, которые он первоначально рассматривал как самостоятельный гриб, и назвал его *Paipalopsis Irmischiae*. 10 мая он привил прорастающие конидии совсем молодым примулам и держал их несколько дней под стеклянным колоколом. В апреле следующего года одно из этих растений образовало соцветие, в тычинках которого были найдены конидии *Paipalopsis*, а в завязях споры *Tuburcinia*. Нет точных указаний на какие органы и каким способом прививали грибок.

Виды *Doassansia*, которые живут на водяных и болотных растениях (Alisma, Sagittaria, Butomus, Limosella и др.), образуют из спор большие склероцеобразные тела, заключенные в ткань питающего растения. У зрелых образований внешний клеточный слой бывает лишен содержания и наполнен воздухом. После зимы, вследствие выветривания ткани, эти образования освобождаются и благодаря наличию плавательного аппарата всплывают на поверхность воды и только теперь прорастают. Для опытов с *Doassansia* Брефельд советует оставлять на зиму пораженные грибком части растения в сырой почве в холодном подвале, а весной вынимать их, разрывать ткани и вымывать споры водой. Когда споры всплывают на поверхность, их легко можно собрать и, повторно

взбалтывая в стерильной воде, получить их почти чистыми. Если освободить эти тела довольно рано, то их можно сохранить под водой, при условии если менять воду каждый день в течение целых месяцев вплоть до момента их использования. Агрегаты спор прорастают и дают конидии уже в воде, но в питательных растворах их развитие идет значительно энергичнее; здесь конидии размножаются почкованием и образуют на поверхности среды плотный слой, который несет на себе многочисленные воздушные конидии. В природе заражение питающих растений происходит, повидимому, на поверхности болотной воды, возможно при помощи развившихся конидий, рассеиваемых водой или ветром.

Опытов с искусственным заражением этими конидиями Брефельд не ставил, но уже много ранее Фиш (Fisch, 1884) различными способами провел успешные опыты с *Doassansia sagittariae*. Иногда он осыпал срезанные молодые листья конидиями и сохранял их под влажным колоколом. В других случаях опыты ставились с Sagittaria в саду. Растение содержали под большим стеклянным колоколом, выложенным внутри влажной фильтровальной бумагой. Все более старые листья были удалены, а на молодые помещали куски тканей, пораженных *Doassansia*, способной к прорастанию. Спустя 6—8 дней на питающем растении возникали желтоватые пятна, внутри тканей которых развивались споровые ложа грибка.

При опытах с большими растениями, как, например, Butomus, надо выбирать возможно небольшие и молодые экземпляры.

Данные Брефельда прежде всего относятся также к *Doassansia sagittariae;* другие виды, поскольку Брефельд их исследовал, проявляют себя несколько иначе.

Graphiola phaenicis — паразит, помещенный среди Ustilagineae, производит в оранжереях на видах Phaenix часто большие повреждения. Заражение, по всей вероятности, может легко произойти, если перенести споры на здоровые листья и держать растение в соответственно влажной атмосфере. В опытах, предпринятых Э. Фишером (E. Fischer, 1883), потребовались, повидимому, года, чтобы появились грибные ложа; к тому же и вообще результат был очень слабый. Позднее Фишер кратко сообщает, что инкубационный период длится по меньшей мере 4 месяца, и листья могут быть заражены даже после того, как большая часть листовой пластинки будет развита.

Schinzia (Entorrhiza) cypericola образует вздутия на корнях

Cyperus flavescens и juncus bufonius. Этот гриб также предварительно помещен среди Ustilagineae. Согласно Веберу (Weber, 1884), прорастание спор этого грибка можно вызвать, если положить клубеньки в воду и поддерживать там температуру приблизительно около +10°. Опыты заражения остались без результата.

Appel O. Flugblatt № 26. Biol. Abt. f. Land- u. Forstw. a. Kais. Gesundh.-Amt (1904).

— Theorie und Praxis der Bekämpfung von Ustilago tritici und U. nuda. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 27 (1909).

— und Gassner G. Der Brand des Hafers und seine Bekämpfung. Flugbl. № 38. Biol. Abt. f. Land- und Forstw. a. Kais. Gesundh.- Amt (1906).

— Der derzeitige Stand unserer Kenntnisse von den Flugbrandarten des Getreides. Mitt. a. d. Kais. Biol. Anstalt für Land- und Forstw., H. 3 (1907).

— und Riehm E. Untersuchungen über den Flugbrand des Getreides. Mitt. a. d. Kais. Biol. An. f. Land- u. Forstw., H. 8 (1909).

— Bekämpfung des Flugbrandes von Gerste und Weizen. Flugbl. № 48. Kais. Biol. Anst. f. Land -u. Forstw. (1911).

Bary de A. Untersuchungen über die Brandpilze. Berlin 1853.

Recherches sur le développement de quelques Champignons parasites. Ann. sc. nat., 4., S. 20 (1903).

— Protomyces microsporus. Bot. Ztg., 32., 81 (1874).

Brefeld. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykologie, 5 (1883). 11 u. 12, Münster 1895. 13, Münster, 1905. 14, Münster 1908.

Broily I. Versuche mit Brandinfektion. Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landw., 8, 335 (1910), 9, 53 (1911).

— und Schikorra W. Beiträge zur Biologie des Gerstenflugbrandes. Ber. d. deutsch. bot. Ges., 31 (1913).

Fisch C. Entwicklungsgeschichte von Doassansia sagittariae. Ber. d. deut. bot. Ges., 2 (1884).

Fischer Ed. Beitrag zur Kenntnis der Gattung Graphiola. Bot. Ztg., 41, 745 (1883).

— Bau- und Entwicklungsgeschichte der Pilzgattung Graphiola. Verh. d. Schweiz. naturf. Ges. in Solothurn (1888), S. 53.

Geuther Th. Über die Einwirkung von Formaldehydlösungen auf Getreidebrand. Ber. d. pharm. Ges., 5 (1895).

Giard A. Sur la castration parasitaire du Lychnis dioica. Comp. rend., 107 (1888).

Gleichen-Russwurm v. W. F. Auserlesene mikroskopische Entdeckungen. Nürnberg 1781.

Haskelly. The spray method of applying concentrated formaldehyd solution in the control of oats smut. Phyt., 7 (1917).

Hecke L. Zur Theorie der Blüteninfektion. Ber. d. deutsch. bot. Ges., 23., 248 (1905).

— Die Triebinfektion bei Brandpilzen. Zeitschr. f. d. landw. Versuchsw. in Österr. 1907, S. 572.

Hoffmann H. Über den Flugbrand. Bot. Unters., herausg. von Karsten. 1, 192 (1866).

Jensen J. L. Nye Undersögelser or Forsög over Korsosternes Brand Markfrökontores Aarsteretning for 1887.

Kellerman W. A. und Swingle W. T. Exp. Station Kansas State Agric. College 1890.

Kellermann und Jennings O. E. Smut infection experiments. Ohio Naturalist, 2, 258 (1902).

Kühn J. Die Krankheiten der Kulturgewächse. 2 Aufl. Berlin 1859.

— Die Anwendung des Kupfervitriols als Schutzmittel gegen den Steinbrand des Weizens. Bot. Ztg., 31 (1873).

— Über die Entwicklungsformen des Getreidebrandes. Ber. üb. d. Sitzung d. naturf. Ges. in Halle, 24 Jan. 1874.

— Mykologische Notiz. Bot. Ztg., 33., 583 (1875).

— Entwicklungsgeschichte des Primelbrandes. Sitzungsber. d. naturf. Ges. in Halle. 15. Juni 1892. Beibl. zu № 305 d. Saale-Ztg.

Lang W. Die Blüteninfektion beim Weizenflugbrand. Zentralbl. f. Bakt. (2), 25 (1909).

Mangin A. Recherches sur le polymorphisme floral, la sexualité et l'hermaphroditisme parasitaire du Lychnis vespertina. Ann. de la Soc. de bot. de Lyon, 16 (1889). См. то же Compt. rend., 107 (1888).

Marshall Ward H. On the structure and life history of Entyloma ranunculi. Phil. Transact. R. Soc. London (B) 178, 173 (1887).

Osner G. A. Leafsmut of timothy. Cornell. Univ. Agric. Exp. Station. Bull. 381 (1916).

Prevost B. Mémoire sur la cause immédiate de la carie des blés. Montauban 1807.

Rawitscher F. Beiträge zur Kenntnis der Ustilagineen. Zeitschr. f. Bot., 4 (1912).

Schellenberg H. C. Die Vertreter der Gattung Sphacelotheca. Ann. mycol. 5. (1907).

Schroeter J. Bemerkungen und Beobachtungen über einige Ustilagineen. Beitr. z. Biol., 2 (1877). 349.

Swingle W. T. The grain smut. Yearbook of the U. S. Dep. of Agric. Washington 1895, S. 409.

Tubeuf C. v. Weitere Beiträge zur Kenntnis der Brandkrankheiten. Arb. a. d. Biol. Abt. f. f. Land.- u. Forstw. a. Kais. Gesundh.-Amt, 2 (1902).

Vriillemin G. Sur les effets du parasitisme de l'Ustilago antherarum. Compt. rend., 113, 662 (1891).

Weber C. Über den Pillz der Wurzelanschwellungen von Juncus bufonius. Bot. Ztg., 42, 369 (1884).

Werth E. Untersuchungen über die Infektion von Melandryum album durch Ustilago violacea. Mitt. d. K. biol. An. f. Land- u. Forstw., Heft 8 (1909.). См. 8 (1913).

Wolff R. Beitrag zur Kenntnis der Ustilagineen. Bot. Ztg., 31, 657, (1873).

— Der Brand des Getreides, seine Ursachen und seine Verhütung. Halle 1874.

Woronin M. Beitrag zur Kenntnis der Ustilagineen. Beiträge zur Morphologie. V Reihe. Abh. d. Senckenberg. naturf. Ges., 12 (1882).

2. Uredineae.

Общее понятие о ржавчинных.

Ржавчинные грибки, или *Uredineae*, исключительно строгие паразиты высших растений — явнобрачных и папоротникообразных. Только немногие из них могут развиваться на более широком кругу не родственных между собою хозяев вплоть до созревания спор (*Cronartium asclepiadeum, Puccinia isiacae*), большинство же ограничивается одним единственным хозяином или же небольшой группой очень близких друг к другу растений. При этом они часто так узко специализируются, что различаются даже между близкими родственными видами и родами. Развитие происходит только на здоровой ткани. Проникание ростковых трубок спор происходит или через устьица (у более развитых растений) или же непосредственно через кожицу совсем молодых тканей. Проникание через раны как будто не происходит; будет ли причиной этого повышенная чувствительность по отношению к грибку соседних с поранением тканей, до сих пор не выяснено. Иногда случается, что ростковая трубка проникает в устьица или клетки кожицы несоответствующего растения; в таких случаях дальнейшее развитие их (трубок) останавливается.

В тесной связи с приспособленностью к паразитированию на живых растениях стоит тот факт, что до сих пор не удалось добиться развития ржавчинных грибов на искусственных средах и на мертвых органических веществах. Даже ростковые трубки, которые довольно легко развиваются в чистой воде, на этих средах часто отказываются расти. В этом отношении ржавчинные представляют полную противоположность другим паразитическим грибам, например головневым, которые хотя и приспособлены к своим питающим растениям, но тем не менее могут развиваться на мертвых органических субстратах и на субстратах различного состава проходить большую или меньшую часть цикла своего развития. Поэтому при опытах с ржавчинными грибами исключается возможность прибегать к чистым культурам. Чистота спор, употребляемых для искусственного заражения, может быть обеспечена только соответствующим подбором материала. Для результатов опытов это обстоятельство не составляет существенной опасности. Загрязнение сапрофитическими грибами особого вреда не приносит, так как они не способны заражать живые растения. Паразиты из других групп сейчас же будут замечены по результатам. И только

появление различных ржавчинников на одном и том же питающем растении составляет затруднения для опыта. Но и в этих случаях не представляется особо трудным отделить их при помощи специальных приемов и различить виды.

Заражение питающего растения происходит исключительно при помощи спор. Является ли для многолетних видов возможным производить заражение путем прививки подопытному растению живых тканей, содержащих грибницу, еще недостаточно выяснено. У ржавчинных имеется пять различных видов спор, которые в некоторых случаях все встречаются в цикле развития одного и того же гриба и обыкновенно чередуются в строгом порядке. У некоторых ржавчинных может отсутствовать тот или иной вид и даже несколько видов спор.

1. Так называемые спермации (пикноконидии) образуются в особых вместилищах (спермогонии, пикниды), из которых они выделяются в капле сладкой жидкости с своеобразным запахом. Иногда они появляются как предвестники эцидий, иногда уредо- или, наконец, телейтоспор. Их значение неизвестно.

2. Эцидиоспоры образуются большей частью в закрытых вместилищах (эцидиях), окруженных оболочкой (перидий) и позднее вскрывающихся, иногда на открытом ложе (caeoma), лишенной оболочки. Они разносятся ветром, а иногда также при помощи насекомых.

В воде, а при достаточной влажности также и на воздухе, они обыкновенно прорастают в течение 24 часов и образуют ростковые трубки, которые проникают в устьица, поскольку прорастание происходит на соответствующем растении. Поэтому при опытах искусственного заражения их переносят на нижнюю сторону листа, несущую устьица. Заражение эцидиоспорами сопровождается образованием грибницы и редко обусловливает развитие эцидиоспор; обычно же возникают уредоспоры, а позднее следующие за ними телейтоспоры; в тех же случаях, когда в цикле развития грибка не имеется уредоспор, возникают прямо телейтоспоры.

3. Уредоспоры обыкновенно возникают по одной на ножках в открытых ложах, реже в цепочках или окружены особой оболочкой (псевдоперидий). Распространение, прорастание и проникание ростковых трубок в питающие растения происходят, как у эцидиоспор. При искусственном заражении их обычно переносят, как и эцидиоспоры, на нижнюю сторону листа. Из уредоспор развивается грибница, которая вновь дает уредоспоры, а позднее

телейтоспоры; в некоторых случаях образования уредоспор не наблюдается, и грибница дает прямо телейтоспоры. Иногда уредоспоры прорастают тотчас же, в других случаях они предварительно перезимовывают (*Melampsoridium carpini, Pucciniastrum agrimoniae, Uredinopiss, Milesina*).

4. Телейтоспоры возникают различным образом — отдельно в тканях, в закрытых ложах, на раскрывающихся порошкообразных или плотных ложах, в виде коростинок различной формы и образований внутри тканей. На основании этого признака различают роды ржавчинников.

В некоторых случаях телейтоспоры способны прорастать тотчас же после созревания, но большей частью они развиваются после некоторого периода покоя, в течение которого они подвергаются влиянию погоды. Прорастание наступает в течение 24, самое большее 48 часов, поскольку они находятся во влажном воздухе или при достаточном доступе влаги. За их прорастанием никогда не следует заражение питающего растения; чаще всего сперва возникает 4-клетная ростковая трубка и каждая из клеток дает начало вторичной споре (споридии); в редких случаях телейтоспора сама делится на 4 клетки, из которых каждая дает начало споридии. Эти различия прорастания телейтоспор обусловливают применение различных способов для искусственного заражения.

5. Споридии отбрасываются от своих стеригм, на которых они возникают, с некоторой силой, достаточной для того, чтобы попасть в воздушные течения. При достаточной влажности они тотчас же прорастают, образуя ростковую трубку. Если прорастание происходит на соответствующем растении, то трубка проникает в ткани через кожицу, поскольку данная часть растения находится в достаточно молодой стадии. Результаты заражения бывают различны. Из трубки развивается грибница, на которой обыкновенно образуются спермогонии. За ними следуют эцидии, а если эти отсутствуют, то уредоспоры, если же нет и их, то телейтоспоры.

В зависимости от наличия или отсутствия тех или иных спор различают типы ржавчинных. У большинства ржавчинников образуются правильно друг за другом все пять форм спор в указанном порядке; это — (*Eu*-формы напр. *Eupuccinia*). В некоторых случаях отсутствуют уредоспоры (*opsis*-формы, напр. *Pucciniopsis*), у других отсутствуют эцидии (*Brachy*-формы, напр. *Brachy-*

puccinia), иногда образуются только телейтоспоры или же телейтоспоры со спермогониями (*Micro*- и *Lepto*-формы). Чаще всего все существующие формы спор развиваются на одном и том же питающем растении (*auto*-виды). Но незначительная часть меняет своих хозяев — спермогонии и эцидии обыкновенно находятся на одном питающем растении; уредоспоры же, если они существуют, и телейтоспоры — на другом (*hetero*-виды). Наконец существуют изолированные формы уредо- и телейтоспор, связь которых с другими еще не установлена. Для выяснения этих отношений опыты искусственного заражения являются необходимым вспомогательным средством.

Первые опыты искусственного заражения с ржавчинными предпринял А. де-Бари (1863). Задачей того времени являлось доказать аггрессивный паразитизм этих грибов, образование спорового ложа и связь между различными спорами в цикле развития одного и того же грибка. Вскоре возникают специальные проблемы, например смена хозяев и т. д. В нынешнее время группу ржавчинных грибов в экспериментальном отношении можно считать лучше всего исследованной и методы искусственного заражения ими разработанными полнее. Нижеследующее излагается на основании главным образом личных опытов автора по изучению многочисленных видов, а также работ Э. Фишера и его школы. Достойное внимания в опытах и в методах других исследователей также принято во внимание.

Подопытные растения.

Опыты с ржавчинными грибами можно успешно проводить только на живых растениях. Срезанные побеги и листья подходят только в исключительных случаях и вообще только тогда, когда необходимо доказать проникание в них ростковых трубок. Для опытов следует употреблять растения, выращиваемые в горшках. После заражения, в течение нескольких дней (4—5), их держат прикрытыми стеклянными колоколами, а для большей уверенности в результате держат их в оранжерее. Подробности методики рассмотрены в общих указаниях во введении. В тех же случаях, где по особым причинам возникают затруднения или же требуются особые приемы, указания даются при обзоре грибов.

Так как живое растение нельзя освободить от посторонних организмов, то „чистые культуры“ у ржавчинных в этом смысле могут быть проведены только в очень ограниченной сте-

пени. Маршал Уард (1902) дезинфицировал семена Bromus антисептическими средствами или же прогревал их до 60—70° по Цельсию и переносил их для прорастания на вату, пропитанную питательным раствором.

Прививку можно производить при помощи прокаленной платиновой иглы. Чтобы избежать вредного влияния закрытого, влажного воздуха, рекомендуют вводить в колокол воздух, профильтрованный через вату. Метод этот применяется только к тем растениям, проростки которых не переходят известной величины. При опытах всегда надо соблюдать предосторожность, чтобы подопытное растение не было больное. В отношении очень распространенных грибов при выгонке растения на открытом воздухе с этим всегда надо считаться. В отношении более редких грибов опасность невелика, и ее можно избежать самым простым способом, если ставить растение во время прорастания в простенок и употреблять возможно молодые побеги.

Опыты с перезимовывающими телейтоспорами.

У большинства ржавчинников имеются перезимовывающие телейтоспоры, которые прорастают только после того, как были предоставлены в течение зимы влиянию погоды. Эти виды могут быть установлены только опытно. Если желательно ставить опыты с ржавчинниками, имеющими зимующие телейтоспоры, то самым важным будет собрать весной части растений с зимовавшими спорами. Но так как весной часто бывает трудно собрать эти споры, потому что питающие растения в течение зимы выветриваются, то в общем рекомендуется собирать их осенью, приблизительно в октябре или ноябре. Повидимому надо выбирать такие части растения, которые обильнее покрыты спорами. Чтобы они не потеряли всхожести, их подвергают искусственно процессу перезимовывания, при котором по возможности стараются сохранить естественные условия. На открытом воздухе опавшие листья обычно лежат на земле или же на стеблях или соломе близ почвы и здесь они подвергаются влиянию погоды, осадков, случайной сухости, мороза и т. д. Чтобы поддержать эти условия, листья или солому с грибом автор помещал в пустые цветочные горшки (не очень много в каждый) и оставлял их на перевернутых горшках рядом друг с другом на открытом воздухе. Надо выбирать места достаточно безопасные, где бы горшкам не угрожала опасность от ветра или животных и в то же время, чтобы они достаточно

подвергались влиянию погоды, например пустую грядку, защищенную сеткой, и т. п. Подставленные перевернутые горшки служат для того, чтобы предохранить по возможности материал от улиток и дождевых червей; все плотные листья в этих условиях сохраняются очень хорошо. Хрупкие листья, которые превратились бы, если их не предохранять, в скомканную массу, автор расправлял на листе писчей бумаги, обращая лист стороной, несущей споры, кверху, и клал их вместе с ней между двумя кусками марли в несколько сантиметров ширины. Теперь марлю закрепляли кнопками на деревянной рамке соответственной величины, прикрывали сверху такой же рамкой и скрепляли их между собою несколькими гвоздями. Эти рамки оставляют на земле на открытом воздухе так, чтобы бумага, которая находится сверху, охраняла листья от дождя, который выбил бы ткань листа через петли марли. В конце марта или в начале апреля этот перезимовавший материал вносят в холодное помещение, раскладывают на фильтровальной бумаге и сушат на воздухе, лучше всего накладывая сверху лист фильтровальной бумаги, чтобы листья остались ровными. Высушенные части растения завертывают в бумагу и сохраняют в сухом месте до момента использования. Э. Фишер (1898) и его ученики применяли иной метод. Собранные осенью части растений со спорами на них они вывешивали в небольших мешочках на всю зиму на воле, где они и подвергались влиянию сменяющейся погоды. С конца марта или начала апреля мешочки перевешиваются в открытую беседку, чтобы дождь на них больше не попадал и чтобы споры не проросли преждевременно.

Иногда опыты с этим материалом не удавались, быть может потому, что споры не имели достаточной влажности, так как материал, который перезимовывал в горшках, давал всхожие споры.

Автор сам лично много раз применял этот метод и получал хорошие результаты, но он всегда употреблял газовые мешочки.

При хранении спор в сухом месте, хотя бы в комнате, споры теряют всхожесть. Также не вызывает прорастание их длительное замораживание как в сухом, так и в сыром виде. Зато автору удалось вызвать прорастание спор, подвергая их попеременно то смачиванию водой, то высушиванию; в этих случаях всхожесть наступала значительно раньше, чем в нормальных условиях. Эти опыты показывают, что зимние холода не оказывают никакого действия на наступление всхожести и влияют на нее постольку, поскольку задерживают созревание и, следовательно, всхожесть до весны.

Опыт ставился следующим образом. Некоторое число листьев или соломы со спорами, связанные свободно в пучок, погружали в воду в большом стеклянном сосуде и придерживали его там большим камнем. Спустя 1—4 дня (при различных опытах брали различное время) листья вынимали и высушивали на подставках. По истечении такого же времени их снова погружали в воду и т. д. Вода сменяется каждый день. При использовании спор для искусственного заражения их всхожесть проверялась нижеописываемым способом. Особенно пригодный для опытов материал дают *Puccinia graminis, P. phragmitis, P. Magnusiana, Phragmidium violaceum, Phr. rubi, Melampsora larici-capraearum* и др. Удалось получить споры, способные к прорастанию уже в январе, а в одном случае даже в половине декабря (Дитель — Dietel, 1919). Этот способ допускает многочисленные изменения и поэтому может служить для проверки различных вопросов. Может быть, его удастся использовать для искусственного заражения. Но в этом направлении опыты пока не производились.

Телейтоспоры сохраняют всхожесть при условии хранения их в сухом месте приблизительно до июля или августа и, повидимому, не дольше. В течение этого времени легко вызвать их прорастание. Для этого материал следует хорошо размочить в воде в течение одного часа или больше, в зависимости от надобности, расправляют листья на стеклянной пластинке или же на мокрой фильтровальной бумаге, разложенной на стеклянной пластинке, стороной, несущей телейтоспоры, кверху, и переносят в закрытую стеклянную банку, в которой поддерживают влажность воздуха, вливая на дно немного воды или же выстилая стенки банки мокрой фильтровальной бумагой. При работе с соломой или тонкими стеблями их разрезают, если то возможно, вдоль или же снимают кору и расправляют. На хорошо прорастающем материале в этом случае обычно уже на следующий день находят споридии или, по крайней мере, промицелий; количество их увеличивается на второй и третий день. Во многих случаях, именно у видов *Puccinia* с плотно лежащими свободными телейтоспорами, как у *P. graminis, P. phragmitis*, у видов, развивающихся на Carex, у видов *Melampsora* и др., наступившее прорастание можно легко различить простым глазом или с помощью лупы благодаря бархатистому белосерому и оранжево-желтому налету на ложах телейтоспор. В сомнительных случаях приходится прибегать к помощи микроскопа. Именно у видов *Puccinia* с телейтоспорами, покрытыми кожицей,

как у группы *P. coronata, sessilis* и др., и, наконец, у тех, которые развивают телейтоспоры, скрытые в ткани, как *Pucciniastrum circaeae*, различить прорастание трудно.

Если не удастся обнаружить их прорастание, то это безусловно не должно заставить отказаться от попытки произвести заражение, так как в некоторых случаях отдельные конидии при известных (благоприятных) условиях могут вызвать заражение. Но в этих случаях не состоявшееся заражение нельзя рассматривать как доказательство невосприимчивости растения к этому паразиту. Такое заключение может быть сделано при условии, если одновременно было получено достаточное число положительных данных с тем же материалом в отношении других растений. Если мы расположим прорастающие телейтоспоры соответствующим образом, например если положить очень небольшое количество их на предметное стекло, или если они находятся на очень тонкой соломине, или же если прикрепить лист с телейтоспорами, на котором они находятся, перевергнутым над предметным стеклом, — можно установить, что споридии отделяются и выбрасываются на некоторое небольшое расстояние, в природе вполне достаточное, чтобы попасть в струю воздуха.

Части растения, предназначенные для заражения с помощью споридий, должны находиться в очень ранней стадии своего развития. Самым подходящим материалом будут листья и молодые побеги, которые только что вышли из почек. На таких органах заражение не только происходит легче, но и возникающие грибные ложа будут самыми большими, так как они растут вместе с еще растущими органами. На взрослых органах получаются маленькие и слабо развитые пятна; еще более старые становятся совсем невосприимчивы. Момент, когда лучше всего предпринять работы по заражению, определяется особенностями листьев. Для таких растений, которые быстро развивают всю листву, например Ribes grossularia, или которые развертывают мало листьев, как Convallaria и Polygonatum, соответствующее время будет очень ограничено. Те же, которые образуют молодые побеги и листья в течение более продолжительного времени, могут служить для заражения в течение более длительного периода. Как поздно можно производить заражение, необходимо установить, так как относительно этого имеется очень мало исследований. Известно, что распускание цветов ландыша можно задержать холодом и потом заставить раскрыться действием тепла в любое время в течение года. Если

бы, что еще не исследовано, нечто подобное удалось получить в отношении телейтоспор *Puccinia*, образующей свои эцидии на ландышах, то заражение ландышей этими грибами можно было бы предпринимать во всякое время.

Самую прививку можно производить различным образом. Наиболее подходящий способ в каждом отдельном случае находится в зависимости от целей опыта или от особенностей питающего растения и качеств инфекционного материала.

Прежние исследователи просто накладывали небольшое количество телейтоспор непосредственно на листья подопытного растения. Так поступал и автор в своих первых опытах. Этот способ удобен в тех случаях, когда листья подопытного растения мало восприимчивы и когда ложе телейтоспор удается легко раскрошить, не влияя на их прорастание, и целесообразен, когда желательно установить, все ли части одного и того же ложа, которые можно рассматривать как состоящие из тканей одного и того же грибка, в состоянии заражать два или несколько различных питающих растений. Неудобство его состоит в том, что некоторые листья не переносят скапливающуюся под лежащим на их поверхности посторонним телом влажность, особенно же если это тело склонно гнить. В этом смысле К. Мюллер (1907) характеризует листья видов Euphorbia. Поэтому в этих случаях он помещал листья, зараженные грибком, над подопытным растением на сетке или же ставил опыты другим методом — он раскладывал листья с грибами на дне деревянного ящичка или горшка, в которые были вложены семена подопытного растения, и оставлял их перезимовывать на воле, предоставляя заражение природе. Этот метод при опытах с *Melampsor*'ой молочая оказался наиболее целесообразным.

Если имеется обильный материал хорошо прорастающих телейтоспор, то споридии можно счищать кисточкой в воду и употреблять эту воду со споридиями для дальнейших прививок. Полученный таким образом материал вместе со споридиями всегда содержит еще споры других грибов и бактерий; но это обстоятельство, как уже упоминалось выше, является помехой только в том случае, если будут смешаны вместе два гриба, схожие по внешнему виду и по их проявлениям. Например если на листьях Holcus lanatus или H. mollis одновременно появляются *Puccinia coronata* и *P. coronifera* и этим мнимо-однородным материалом произвести заражение как Rhamnus frangyla,

так и Rhamnus cathartica, то исследователь будет введен в заблуждение сходством этих обоих грибов, которого на самом деле не существует. На листьях Salix aurita встречаются смешанными *Melampsora ribesii-auritae* и *M. larici-epitea*, автор сам это наблюдал; оба гриба выглядят одинаково и вызывают образование эцидий как на Ribos, так и на Larix, и это может повести к ложному заключению, что грибы этих двух растений тождественны. Такой же случай имеет место у *Melampsora* на Populus tremula (см. Клебан, 1894, 1896 и 1903).

Если желательно избежать других грибов и бактерий, которые находятся вместе со споридиями на перезимовавших листьях, последние собирают на чистую стеклянную пластинку. В других случаях с этой целью листья с прорастающими на них спорами прикрепляют в перевернутом положении на незначительном расстоянии от пластинки, на которую споридии и сбрасываются сами по себе, если условия влажности бывают вполне достаточны. Иногда споридии счищают кисточкой в воду. Этот способ рекомендуется в тех случаях, когда в распоряжении имеется очень немного телейтоспор. Однако при этом способе есть опасность получить смесь двух ржавчинных грибов; точно также не исключена возможность, что будут получены и смешаны со споридиями выброшенные аскоспоры, если случайно на листьях оказались зрелые перитеции. В том случае, когда листва подопытного растения легко смачивается водой, жидкость со спорами переносится сюда при помощи кисточки. Преимущество этого способа состоит в том, что им можно произвести заражение отдельных листьев или определенных частей подопытного растения, которые еще можно метить особо, что даст возможность контроля даже на самом опытном растении. Если же, что очень часто случается, листва не смачивается, и маленькие капельки жидкости, которые можно наносить также капиллярной пипеткой, не прилипают, то употребляют пульверизатор. Употребление его, если брать самые малые размеры, предполагает необходимость для прививки одного или двух кубических сантиметров жидкости, так как только в этом случае возможно иметь достаточное смачивание, особенно если листва довольно толста; при употреблении же кисточки обыкновенно хватает нескольких капель. Если при распылении из пульверизатора желательно произвести заражение отдельных частей растения, то остальные необходимо защитить, обертывая их при опрыскивании пропускной бумагой.

Лично автор применял иной способ, который ближе всего отвечает естественным условиям и делает излишним вспомогательные приемы для перенесения спор и, следовательно, позволяет избежать недостатков указанных выше способов. Этот способ состоит в том, что с помощью трех или четырех деревянных палочек, расщепленных кверху, над подопытным растением прикрепляется круглый кусок металлической сетки, ширина ячей которой должна быть около 1 *см*^{2}, таким образом, чтобы он находился на расстоянии одного-двух сантиметров от верхних листьев растения. Выбирают растение, настолько разросшееся или по возможности широко раскинутое, чтобы всюду под сеткой находились листья, пригодные для заражения. Если листья находятся на различной высоте, то можно прикрепить несколько сеточек на различных высотах. На сетку помещаются части растения, несущие прорастающие телейтоспоры, с тем расчетом, чтобы споры, с развивающимися споридиями, были обращены книзу. Подходящим моментом является, когда споры должны начать отбрасывать споридии. Чтобы развитие споридий продолжалось и они могли прорастать, употребляемый для заражения материал с грибом необходимо накрыть влажной пропускной бумагой и все растение на несколько дней поместить под стеклянный колокол, выложенный внутри влажной фильтровальной бумагой. Если телейтоспор много и они сильно прорастают, этим способом получается иногда столь сильное заражение, что листья подопытного растения бывают сплошь покрыты ложами гриба и преждевременно погибают. Вследствие этого следует соответственно оценивать качество применяемого для заражения материала. Если телейтоспоры имеются в ограниченном количестве и этим незначительным количеством желательно заразить некоторое количество растений, рекомендуется следующее изменение описанного метода. Кусочки листьев, несущие ложа гриба, прикрепляют на нужное число небольших полосок из сложенной в несколько раз и увлажненной фильтровальной бумаги; споры доводят до прорастания и, перевернувши, кладут эти полосы на сетке над растением. Необходимо следить, чтобы споровое ложе, выбрасывающее споридии, приходилось по возможности перпендикулярно к листьям, предназначенным для заражения. Зараженные растения, как обыкновенно, помещают под стеклянные колокола. Если поддерживают влажность фильтровальной бумаги, опрыскивая ее водой, то кусочки листа остаются прочно прикрепленными к бумаге, даже в том случае, если они будут мельче, чем ячеи сетки.

Спустя 4—5 дней во всех случаях воздух под колоколом проветривают, подставляя под края колокола или маленькие цветочные горшочки или деревянные шашки, чтобы постепенно приучить растение к сухому воздуху; в следующие дни, после удаления колокола, растение предохраняют от слишком сухого воздуха и слишком яркого солнца. Результаты заражения обычно проявляются спустя 8—14 дней. В отдельных случаях заражение может обнаружиться спустя несколько месяцев.

Посторонние грибы-ржавчинники редко мешают и не всегда вредят опыту. При опытах с грибами, меняющими хозяев, едва ли эти случаи возможны, так как данные грибы должны бы таким же образом менять хозяина и быть всеядными паразитами, но таковых нет. Если материал хорош, то опасность невелика в отношении сумчатых грибов еще по той причине, что условия, при которых происходит прорастание телейтоспор, не всегда соответствуют тем, при которых данные сумчатые плодоношения выбрасывают свои споры.

В особых случаях желательны и даже необходимы изменения описанного метода. Некоторые ржавчинники из родов *Puccinia*, *Uromyces*, *Phragmidium*, *Triphragmium* образуют телейтоспоры не в коростинках или связанными массами, но легко отделяющимися рыхлыми кучками. В течение зимнего хранения с этими грибами следует быть особо осторожным, так как дождем эти споры легко могут быть сбиты. В таких случаях рекомендуется хранить материал или в рамках или в газовых мешочках. Заражение можно производить, размещая перезимовавшие листья на сетке над подопытным растением, но лучше переносить телейтоспоры непосредственно на подопытные растения, счищая их твердой кисточкой и распыляя над растением, или еще лучше снимать споры в воду и высеивать их при помощи пульверизатора. В первом случае после прививки спор растение следует опрыскать водой и поддерживать его влажным, чтобы споры могли прорасти; во втором случае субстрат со спорами можно предварительно размочить в воде и держать их во влажном состоянии, пока споры не начнут прорастать так, чтобы во время высеивания их они находились уже в начальных стадиях развития. Споры очищают от примеси тканей, фильтруя воду со спорами через мюллеровский газ, с соответствующей шириной ячей. С этой целью автор употреблял толстостенные стеклянные трубки в один-два сантиметра ширины и 10—15 длины, на одном отшлифованном конце которой

сургучом прикреплял кусочек газа. Если спор имеется мало, а требуется много воды для того, чтобы их вымыть из субстрата, для их концентрирования после фильтрования с успехом можно прибегать к употреблению центрифуги.

Опыты с незимующими телейтоспорами.

У некоторого числа родов Uredineae, как *Gymnosporangium*, *Cronartium*, *Coleosporium*, телейтоспоры прорастают тотчас же после их образования — весной, летом или осенью и таким образом не зимуют. То же самое имеет место у видов, обозначенных как lepto-формы родов *Puccinia* и *Uromyces*. При опытах с такими телейтоспорами их необходимо собрать прорастающими на открытом воздухе и тотчас же использовать для опытов или же, лучше, собрать их в зрелом состоянии, но еще до прорастания и, выдерживая во влажном состоянии, искусственно довести их до прорастания. Прививка, по существу, производится тем же способом, что и у зимующих. Так как разные формы в частностях проявляют себя по-разному, то более точные данные будут указываться при обзоре отдельных родов.

Опыты с эцидиоспорами.

Ростковые трубки эцидиоспор обычно проникают в питающее растение через устьица. Поэтому местом заражения в первую очередь является нижняя сторона листьев. В связи с этим условием споры не могут попадать сюда, если растение или отдельные его листья не держать в течение более или менее продолжительного времени в перевернутом состоянии или же приходится переносить споры искусственно. Gramineae и Cyperaceae можно на некоторое время укрепить в горизонтальном положении, вследствие чего часть листа, морфологически нижняя, будет направлена кверху. Но в общем непосредственное искусственное заражение будет более успешным и надежным. В некоторых случаях спор бывает так много, что их можно переносить кисточкой; чаще же всего приходится потратить много труда, чтобы сохранить споры и если возможно, то и размножить. Обычно собирают эцидии как раз к тому времени, когда их перидий должен лопнуть или только что лопнул, и помещают их на один день в закрытую стеклянную банку, не создавая там особой влажности. Обыкновенно на следующий же день появляются достаточно многочисленные, легко опадающие, споры. Тогда листья с эцидиями переносят

на подопытное растение и кладут их эцидиями на нижнюю сторону того листа, который предполагается заразить. Благодаря яркой оранжево-красной или, в некоторых случаях, белой окраске спор обычно легко можно видеть, высеялись ли они. Таким образом можно заражать определенные листья или определенные части листьев и их особо отметить. Если эцидии дозревали в банке, то иногда бывает полезно сбросить споры на стеклянную пластинку соответствующей величины и с нее уже переносить споры на листья. После стряхивания эцидиоспор листья с эцидиями кладут обратно в банку, так как часто удается на второй и третий день еще раз иметь споры. На живых растениях эцидии развиваются дольше.

Посев спор стряхиванием сопряжен с опасностью, что споры могут попасть также на те растения, которые не предполагали заражать. Поэтому последние следует держать в особом помещении. Ради выяснения вопросов специализации в некоторых случаях может встретиться необходимость заражать отдельные части растения различными формами гриба, например различные побеги одной и той же ивы (Salix) заражать эцидиями форм *Melampsora*, собранными с различных видов Salix. В этих случаях при опытах следует соблюдать особую предосторожность. Автор в этих случаях помещал между различными частями растения картонную папку, чтобы разделить растение, и оставлял его в таком положении в течение всего опыта. Само собой приходится считаться еще с тем, что случайные споры все же могут попасть.

Заражения сухими спорами можно избежать, если их размешать в воде и прививать на растение кисточкой. При этом обнаруживаются некоторые затруднения. Во-первых — те, что часто споры трудно смачиваются водой и вследствие этого неравномерно распределяются в воде или же плавают по поверхности и прилипают к стенкам сосуда. Энергичное повторное взбалтывание в закрытом сосуде будет единственным средством добиться равномерного их распределения в воде. Во-вторых — листья подопытных растений (именно нижняя их сторона) также часто не смачивается, так что нанесенная на них жидкость собирается в капли и скатывается с листьев. В таких случаях капли переносят при помощи пульверизатора. Если некоторые части растения не намерены заражать, то их предохраняют, хотя бы обертывая пропускной бумагой.

Артюр (Arthur, 1900) указывает, что листья, которые у него не смачивались, он предварительно растирал пальцами, чем добивался того, что они начинали смачиваться. Затем он опрыскивал растение водой и в капельки воды вносил споры, которые соскабливал с субстрата скальпелем. Автор не особенно рекомендует этот способ, как мало естественный. Во всяком случае распыление спор с водой из пульверизатора или же в других случаях перенесение сухих спор дают те же самые результаты, если требуется заразить определенные листья.

Если на подопытные растения перенесено достаточное количество спор, их покрывают колоколом. Рекомендуется оставлять там растения возможно дольше, во-первых, для того, чтобы возможно больше спор проросло, а во-вторых, потому, что колокол является лучшим средством предохранить растение от разных нежелательных инфекций. Следует наблюдать, чтобы слишком длительное пребывание растения во влажном воздухе не причинило ему вреда. Это относится к целому ряду чувствительных к влажности растений, как, например, Rhinanthaceae. Особо большая влажность при опытах с эцидиоспорами вообще нежелательна, и во всяком случае вспомогательные приемы, как опрыскивание растения водой, выкладывание внутренних стенок колоколов сырой бумагой, являются излишними. Обычно результат заражения проявляется спустя 10—20 дней. В особых случаях, например при заражениях видов Juniperus эцидиоспорами *Gymnosporangium*, можно ожидать результатов только в следующем после заражения году.

При опытах над специализацией является важным установить невосприимчивость к грибу данного питающего растения. В таких случаях прежде всего следует определить способность эцидиоспор к прорастанию. С этой целью споры высевают в маленькой стеклянной чаше в небольшое количество воды и ставят чашку в закрытую стеклянную банку, поддерживая в ней влажность. Обычно уже на следующий день всю чашку ставят под микроскоп и со слабым увеличением рассматривают, наблюдая, не наступило ли прорастание. Способность грибка прорастать на растении и заражать его вернее всего можно установить при помощи параллельного опыта на основном питающем и испытываемом растении, поставленного одновременно и в одинаковых условиях. Если посеять одновременно эцидии *Cronartium asclepiadeum* на Vincetoxicum officinale и другом растении и держать оба рядом

в течение 4—6 дней под тем же колоколом и Vincetoricum будет заражен обильно, а другое не будет совершенно заражено, то можно будет с уверенностью заключить, что это последнее растение невосприимчиво.

Иногда обнаруживается, что споры при прорастании ведут себя капризно. Согласно Эриксону (Eriksson, 1895) в некоторых случаях можно вызвать развитие не желающих прорастать спор тем, что их предварительно охлаждают в течение некоторого времени в тающем льде или в холодном шкафу.

Способность к прорастанию эцидиоспоры сохраняют большею частью только несколько недель. У *Peridermium strobi* автор обнаружил споры, способные заражать, еще спустя пять недель после их созревания (Клебан, 1904). Споры живущего на шишках сосны *Thecopsora areolata*, образовавшиеся осенью, перезимовывают в перидии, остающемся закрытыми до весны (Тюбёф 1901/02, 1905).

На эцидиях, развивающихся в комнате или оранжерее, обычно наблюдаются трубкообразные удлинения перидия, которые придают эцидиям странный вид и утрудняют получение спор. В остальном, при применении спор для опытов, они никоим образом не мешают.

Опыты с уредоспорами.

Указанные при опытах с эцидиоспорами способы с некоторыми незначительными изменениями применимы также при опытах с уредоспорами. Проще всего переносить уредоспоры таким образом: предназначенное для заражения место приводят в соприкосновение с хорошо развитым ложем уредоспор, соединяя нижнюю сторону здорового листа с листом, несущим гриб. Тогда переносятся только легко опадающие споры, которые в общем лучше всего прорастают. Само собой разумеется, что в зависимости от надобности споры можно стряхивать на подопытное растение, но непременно так, чтобы они попадали на нижнюю сторону листа, или же счищают их в воду и вместе с водой переносят на растения при помощи пульверизатора.

Эриксон и Хеннинг (1896), Карльтон (Carleton, 1899) и Маршаль Уард (1902) при своих опытах переносили споры на определенные места подопытного растения (травы и злаки) скальпелем. Эти места предварительно смачивались водой. Эриксон оставлял споры предварительно прорастать в воде. Места

прививки отмечаются и подсчитываются; подсчитываются также и успешные прививки. Преимущества этого метода заключаются в том, что при нем получаются численные результаты, что имеет значение при рассмотрении вопросов специализации. Впрочем, раньше описанные способы удобнее и естественнее, и при равномерном рассеивании спор (именно при распыливании с водой) и при тщательном сравнении результатов также применимы. Маршаль Уард рекомендует переносить споры в капельки воды, выделяющиеся на верхушки травянистых листьев. Этим способом автор лично получил хорошие результаты с *Puccinia glumarum*.

Меры предосторожности против нежелательного занесения посторонних спор здесь так же нужны, как и при опытах с эцидиоспорами. В тех случаях, когда исходной точкой являются грибы, собранные на воле, в первую очередь необходимо поставить и разрешить вопрос относительно однородности ложа. На листьях пшеницы, например, нередко встречаются ложа уредоспор *Puccinia graminis*, *P. triticina* и *P. glumarum*, и особенно часто эти последние, рядом друг с другом. Если имеют дело с такими случаями, то при очень тщательной работе хотя и возможно получить отдельные чистые заражения, но большею частью с большим трудом удается заразить отдельные растения целиком и сильно только одним видом гриба. Методы, соответствующие обычным коховским методам с пластинками, для этих грибов не применимы.

При опытах с ржавчинниками нередко возникает задача заразить некоторое количество растений полностью и сильно одним единственным грибком, особенно когда работа ведется с последовательными поколениями гриба. Опыт такого рода автор проводил в течение 13 лет с *Puccinia smilacearum digraphidis* (Клебан, 1907). Эцидии грибка выращивались весной на Polygonatum multiflorum из телейтоспор, зимующих на Phalaris arundinacea. Затем Phalaris заражали эцидиоспорами, и тогда возникала задача размножить по возможности гриб, перенося уредоспоры с листа на лист, чтобы к осени иметь обильное развитие телейтоспор. С этой целью зараженные растения держали в оранжерее и рассеивали споры на листьях тем, что каждые 8—14 дней все листья осторожно прижимали друг к другу и при этом их встряхивали или же проводили вдоль листа пальцем, а также немного опрыскивали водой. Дальнейших специальных мер большею частью не требовалось: условия влажности воздуха в оранжереях, повидимому, были достаточны, чтобы

вызвать прорастание спор и дальнейшее заражение. Конечно, растения, после нового заражения, опять помещали под стеклянный колокол. Для того, чтобы снова получить телейтоспоры, у видов *Puccinia*, живущих на видах Carex, автор поступал таким же образом. Если одновременно приходится культивировать несколько грибков, которые могут заразить одного и того же хозяина, необходимо принять меры от смешения грибов. В тех случаях, когда нет оранжереи с особыми отделениями, специально приспособленной для целей заражения, приходится распределять отдельные группы грибков по разным оранжереям или же по разным помещениям. Если вовсе не имеется оранжереи, то каждый раз, когда следует переносить споры, растения оставляют на несколько дней под колоколом. Не всегда легко удается равномерно заразить растение, если оно даже обильно образует телейтоспоры, и странно, как обычно мало распространяется болезнь при искусственном заражении, хотя бы, казалось, все необходимые условия были приняты во внимание.

Уредоспоры сохраняют способность к прорастанию в течение нескольких недель и редко дольше. Для *Puccinia triticina* автор отметил прорастание спустя $3^1/_2$ месяца, а Берклей (Barcley, 1891) для некоторых случаев указывает даже 8 месяцев. Обыкновенно при достаточной влажности они прорастают тотчас же. В редких случаях наблюдается их перезимовывание. Зато во многих случаях наблюдается способность грибницы или развивающегося ложа перезимовывать и весной тотчас же опять развивать споры.

Перемена хозяина.

Незначительная часть ржавчинных грибов меняет хозяина Для исследования условий жизни этой группы искусственное заражение имеет особое значение, так как только этим путем можно точно установить перемену хозяина и круг питающих растений. Перед постановкой опытов собирают указания и строят предположения относительно вида питающего растения, так как невозможно вести опыты так широко, чтобы производить посевы на всех растениях, поддающихся заражению ржавчинниками. Ограничиться растениями определенной части флоры будет недостаточно, так как наблюдаются случаи, где ржавчинники, меняющие хозяина, сохраняются в стадии уредоспор и потому могут жить без перемены хозяев в таких местностях, где отсутствуют растения, питающие эцидии, например

Melampsorella caryophyllacearum, ржавчина злаков и другие. Исследованиям де-Бари (1865) над *Puccinia graminis* и Эрстеда (Oersted, 1865) над *Gymnosporangium sabinae* предшествовал некоторый опыт сельских хозяев. Там, где отсутствуют такие наблюдения, расследования на местах произрастания грибов дают указания в тех случаях, когда оба поколения гриба живут на питающих растениях с ограниченным распространением или же, если обе группы питающих растений принадлежат к одной и той же растительной формации (В. Тавель—Tavel, 1893, Фишер, 1904; Клебан, 1904, 1914). Но нередко случается, что оба питающие растения являются составной частью совсем различных формаций и что смена хозяев делается возможной только вследствие случайной встречи растительных формаций или потому, что споры уносились ветром на более далекое расстояние. В некоторых случаях известные в смене хозяев закономерности могут помочь найти новые, так как закономерность в выборе хозяина существует, хотя и небезусловно. Так, например, большинство видов *Puccinia* и *Uromyces* в поколении телейтоспор живут на травянистых растениях, поколение эцидий *Puccinia sessilis* на однодольных, виды *Gymnosporangium* имеют хозяевами, за немногими исключениями, виды Juniperus и Pomaceae, виды *Coleosporium* образуют эцидии на соснах, многие *Melampsoraceae* главным образом на Coniferae, например *Melampsora* отчасти на Laris и Pinus, *Pucciniastrum* и ржавчинники папоротников на видах Abies и т. д. Особенный интерес представляет выработанный В. А. Траншелем (1904, 1905) метод, который основывается на том, что у ржавчинников на растениях, питающих поколение эцидий, встречаются иногда виды, лишенные эцидий и телейтоспоры которых более или менее точно соответствуют телейтоспорам соответствующих видов, меняющих хозяина. Так, например, телейтоспоры *Puccinia pruni*, развивающиеся на листьях слив и эцидиальная стадия которой находится на анемонах, почти совершенно соответствуют живущей на анемонах же *Puccinia fusca*. Но этот метод применим только в очень ограниченном масштабе, так как такие параллельные формы не особенно часто встречаются. Но тем не менее он привел уже к открытию многих интересных случаев (Траншель, 1905; Фишер, 1910).

Очень затруднительно найти смену хозяев в тех случаях, когда гриб сохраняется из года в год при помощи уредоспор. Тогда он может жить в местностях, где отсутствуют растения, питающие

эцидии. Естественно, что здесь всякие попытки найти эцидии окажутся безуспешными. До сих пор, например, еще совершенно неизвестна смена хозяина ржавчины злаков *Puccinia glumarum*.

Приспособляемость (специализация).

Среди опытов искусственного заражения со ржавчинниками очень большое место занимают опыты над приспособляемостью, или специализацией, которая у ржавчинников выражена в очень сильной степени. Эти опыты можно производить с каждым из трех видов спор, так как до сих пор не подтверждено случайно высказанное предположение, что эцидиоспоры менее строго приспособлены и образуют в известной степени мостки или звенья между отдельными формами и в некоторых случаях будут в состоянии переходить на тех хозяев, к жизни на которых они не приспособлены, или же неспособны их заражать при помощи уредоспор. Опыты должны быть всегда поставлены в большом количестве. Эти опыты предполагают наличие грибного материала, годного для выполнения заражения, и в достаточном количестве опытных растений в хорошем состоянии; необходимого количества стеклянных колоколов и соответствующего помещения для содержания растений. Для выполнения прививок существенно необходимо, чтобы опытные растения были одного и того же вида, т.-е. чтобы они принадлежали к одному и тому же сорту и одной и той же культурной разновидности и по возможности чтобы это были потомки одних и тех же особей; дальше, чтобы все подопытные растения были равномерно и достаточно обильно покрыты спорами и чтобы в течение инкубационного времени находились в возможно одинаковых и благоприятных условиях. В некоторых случаях желательно, чтобы разные опыты производились на различных частях того же самого растения.

Примером может служить тот случай, когда решить: являются ли обе формы *Melampsora larici-epitea*, паразитирующие на Salix aurita и cinerea, с одной стороны, и на S. viminalis — с другой, вполне тождественными. Для разрешения этого вопроса эцидии выращивали на одной лиственнице из телейтоспор от S. cinerea, а из телейтоспор от S. viminalis — на второй лиственнице. Потом заготовляли в горшках S. aurita, cinerea и viminalis; ветви каждого растения разделяли на две равные части и изолировали их друг от друга, вкладывая между ними лист картона, и затем одну половину растения заражали спорами

с первой лиственницы, а другую — с другой. Чтобы избежать во время прививки занесения спор извне, эцидиоспоры заготовляли в разных комнатах на стеклянные пластинки и приносили к опытному растению в закрытых банках и очень осторожно прививали их на нижнюю сторону листьев подопытной части растения. Потом каждое растение покрывали большим стеклянным колоколом. Результат спустя 7—12 дней был таков: споры, которые в конечном счете произошли от Salix cinerea, заразили только Salix cenerea и aurita и обе одинаково сильно, тогда как споры от Salix viminalis заразили S. viminalis сильно, S. cinerea слабо, а Salix aurita совсем не заразили. Таким образом было обнаружено различие этих грибков.

Uromyces и Puccinia.

Оба рода *Uromyces* и *Puccinia* отличаются один от другого только тем, что *Uromyces* имеет одноклеточные телейтоспоры, а *Puccinia* — двуклеточные. Внутри этих двух родов существуют три параллельные группы, различающиеся в отношении свойств ложа телейтоспор и благодаря этому требующие различных приемов при постановке опытов искусственного заражения.

Телейтоспоры видов первой группы сидят на ножках прочно и образуют крепкие и голые, вследствие разрывания кожицы питающего растения, ложа. Отчасти эти грибы будут Leptopuccinia, которые образуют только телейтоспоры — в течение лета одни, которые прорастают тотчас же, а осенью — другие, которые прорастают после зимнего покоя. Примеры: *Uromyces pallidus*, *Puccinia asteris*, *P. arenariae*, *P. malvacearum*. Остальные имеют более полный цикл развития; их телейтоспоры обычно прорастают после зимования. Примеры: *Uromyces junci*, *Puccinia graminis* и пукцинии на Carex. Обычно при искусственном заражении самым удобным будет тот способ, когда вызывают прорастание телейтоспор и помещают их вышеописанным способом на сетке над опытным растением; или же, если обстоятельства будут благоприятны, взятые с прорастающих телейтоспор споридии, смешанные с водой, прививают на растения кисточкой или из пульверизатора. Перед постановкой опытов следует установить момент, когда споры способны прорастать.

Ко второй группе относятся формы, телейтоспоры которых бывают продолжительно покрыты кожицей. Эти обычно прорастают после зимования. Промицелий и споридии которые

иногда трудно разглядеть, разрывают кожицу. Примерами служат *Uromyces dactylidis, Puccinia coronata* и пукцинии на Phalaris и т. д. При опытах с этими грибами обычно ограничиваются раскладыванием субстрата с плодоношением грибка над сеткой; заражение споридиями применяется только в тех случаях, когда их много и когда они бывают заметны. Такими телейтоспорами характеризуется *Puccinia dispersa* на ржи; эта пикциния, согласно де-Бари (1866), образует свои эцидии на видах Anchusa. Автор провел успешный опыт искусственного заражения таким образом: большое количество отпрепарированных крошечных лож телейтоспор переносил с некоторым количеством воды на верхнюю сторону листьев Anchusa и после этого держал растение под стеклянным колоколом в оранжерее (Клебан, 1898). Возможно, что, нанося на сетку маленькие кусочки зараженных листьев ржи, можно было бы иметь тот же результат. При более продолжительном лежании таких кусочков листьев, особенно незимовавших, всегда надо считаться с возможностью развития плесеней и удалять их, как только плесень появляется. Это относится ко всем опытам, и поэтому по возможности листья надо класть, когда ожидают прорастания в ближайшие 24—48 часов. Впрочем, здоровые растения от плесеней не так легко страдают.

Третья группа включает те виды, у которых телейтоспоры очень легко отделяются от ножек и рано раскрывшиеся ложа делаются вследствие этого порошковидными (*Uromyces trifolii, Puccinia violae, P. menthe, P. cari-bistortae, P. hieracii* и т. д.). Прорастание большей частью происходит после зимования. При опытах с этими грибами самым подходящим будет тот способ, когда споры — после того как их полдня размачивали в воде — снимают кисточкой или прямо стряхивают в воду и потом прививают на растения. Для концентрирования спор может быть использована центрифуга. Чтобы очистить споры от посторонних примесей, автор их пропускал через сито из мюллеровского газа соответствующей тонкости. Опыление сухими спорами не рекомендуется (Клебан, 1898, 1907, 1912; Фишер, 1902, 1908, 1910, 1912; Бок, 1908; Крюше, 1907; Пробст, 1909 и т. д.). Внутри третьей группы значительное место занимают микроформы (*Microuromyces, Micorpuccina*), которые образуют только телейтоспоры и споридии, а иногда также и спермогонии. Некоторые из них развиваются тотчас же после появления из почвы листьев питающих их растений раннею весной. Листва этих растений проходит настолько скоро, что в середине лета уже почти исчезает

(*Uromyces ficariae, Puccinia fusca, Puccinia Adoxae* и т. д.). Естественный ход заражения у этих грибов будет таков, что споры попадают в почву вместе со сгнившими листьями и весной заражают развивающиеся побеги, если эти будут с ними соприкасаться. При искусственном заражении подражают этим условиям: подопытные растения сажают в горшки и покрывают землю листьями, обильно усеянными спорами; горшок завязывают газом и оставляют зимовать на воле; или же листья или отделившиеся споры смешивают с почвой в горшке и так оставляют их на зиму на воле (Клебан, 1903; Фишер, 1905, 1908, 1914, 1917).

Существуют также виды, меняющие хозяев, с которыми можно ставить те же опыты, например *Puccinia argentata*. Для этого сажают в одной чашке плотными рядами большое количество экземпляров питающего эцидии растения, Adoxa moschatellina, а осенью раскладывают над ними листья Impatiens nolitangere усеянные телейтоспорами, и все это зимует на воле. Весной, вскоре после развития Adoxa, на ней замечается появление эцидий (Клебан, 1912, 1914). Для критики опытов надо отметить, что в некоторых случаях, например у *Puccinia fusca*, мицелий будет многолетним и сохраняется в подземных частях растения, так что эти последние распускаются весной, покрытые плодоношениями грибка, несмотря на то, что их в этом случае не заражали. Дальше надо отметить, что точные опыты во всяком случае требуют, чтобы споридии или, по меньшей мере, телейтоспоры были перенесены непосредственно на подопытные части растения, вероятно на почки.

Таким образом, повидимому, проводились опыты пока только с *Uromyces pisi* (на горохе), эцидиальная форма которого живет на видах Euphorbia, побеги которой грибок совершенно уродует и в корнях которой он перезимовывает. Для опытов с ним автор изолировал весной подземные почки здорового экземпляра молочая (Euphorbia cyparissias), выращиваемого в горшке, при помощи сильной струи из водопровода, и прививал на них кисточкой счищенные в воду с перезимовавших листьев гороха телейтоспоры. После этого растение сохраняли несколько дней под стеклянным колоколом и потом снова засыпали землей. Выросшие спустя некоторое время побеги были чисты от плодоношения гриба, и лишь в апреле следующего года появились обычным образом пораженные побеги, между тем как повторного опыта с этим растением не ставили и никакой случайной инфекции быть не могло (Клебан, 1912; Жорди, 1904).

Gymnosporangium.

Большинство видов (исключение составляет американский *G. bermudianum*) меняют хозяев; телейтоспоры живут на Cupressaceae (Juniperus), эцидии — на Pomaceae (исключение *Aecidium gracilens* на Phyladelphus), уредоспоры отсутствуют. Телейтоспоры образуются ранней весной и способны прорастать тотчас же после созревания и как раз к тому времени, когда хозяева эцидий распускают листья. Подушечки и рожкообразные ложа телейтоспор к этому времени разбухают от дождя (также если их положить в воду), образуют большие буро-желтые студенистые массы, поверхность которых покрывается споридиями, развивающимися на промицелии. Споридии можно легко собрать в воду и кисточкой или пульверизатором привить на питающее растение (Клебан, 1892). Можно также укрепить студенистые массы над подопытным растением, и споры будут падать на листья растений сами собой (Эд. Фишер, 1901, 1909). Для сохранения влажности растение тотчас же после заражения покрывают стеклянным колоколом. Спермогонии чаще всего появляются спустя 8—17 дней после заражения; эцидии же (типа Roestelia) созревают только позднее летом или к осени.

Опыты искусственного заражения с эцидиоспорами на видах Juniperus были проведены относительно успешно только на незначительном числе видов. Опыты с *Gymnosporangium amelanchieris* и *G. aucupariae-juniperinum* были поставлены Фишером (1909) следующим образом: собрали в августе эцидиоспоры и их стряхнули на Amelanchier ovalis resp. Sorbus aucupariae. Опытными растениями служили экземпляры в горшках в возрасте одного года. Сначала их посыпали сухими спорами, потом опрыскивали водой со спорами из пульверизатора и, наконец, над ними подвешивали ветви с листьями, несущими эцидии. После этого растения ставили на несколько дней под стеклянный колокол, потом выдерживали в течение зимы на открытом воздухе. Телейтоспоры появились только на второй год после заражения (в апреле): значит инкубационный период тянулся около $^3/_4$ года. Результат был положительный, хотя заражение обнаружилось не на всех растениях. Особых технических затруднений при опытах не наблюдалось. Прилипание эцидиоспор, их прорастание и проникание ростковых трубок, повидимому, зависить от определенных, неизвестных условий, которые во время опыта не всегда имеются на-

лицо. Так, например, собственные опыты автора с *G. ariae-tremelloïdes* (Клебан, 1907) были безрезультатны. У видов, живущих на листьях, листья будут, само собой разумеется, тем местом, где проникают ростковые трубки; но еще не установлено, будут ли проникать через листья также и те виды, которые живут на побегах.

Phragmidium, Xenodochus, Triphragmium.

У видов *Phragmidium* телейтоспоры зимуют, образуя рыхлые ложа, и легко отпадают. Лучше всего в течение зимы сохранять их по методу Фишера — подвешивая их в мешочках на воле. При обмывании и размачивании листьев надо соблюдать осторожность, чтобы споры не осыпались. Заражение можно произвести следующим способом: спорам дают прорасти; затем листья, на которых они сидят, раскладывают на сетке над подопытным растением. При опытах автора с ежевикой (*Phragmidium rubi* и *Phr. violaceum*), задачей которых было сравнить большое число растений относительно их восприимчивости, он счел более целесообразным употреблять пульверизатор. Листья с перезимовавшими спорами сперва размачивались в воде в течение 12—14 часов, пока не появлялись начальные стадии прорастания и не развивались споридии. После этого автор счищал споры жесткой кисточкой в воду и темную от спор воду распределял по возможности равномерно на подопытных растениях. Так как у этих грибков можно легко собрать много телейтоспор, то легко было заразить большое количество растений. Во время опрыскивания растения стояли плотными рядами в железном ящике, и в течение следующих четырех-пяти дней их держали с закрытыми стеклами, чтобы воздух там был достаточно влажен. После этого срока стекла сперва приподнимались, затем удалялись и только тогда растения вынимали (Клебан, 1907, 1912). Первый результат можно было заметить приблизительно через 14 дней. Дальнейшее заражение легко получить при помощи спор, созревающих в эцидиях простым прикосновением к ним нижней стороны здоровых листьев, или же опрыскивая последние из пульверизатора водой со спорами. Следствием этого заражения будет появление лож с уредоспорами. Таким же путем можно переносить уредоспоры и размножать эти плодоношения.

С другими видами *Phragmidium* можно ставить опыты теми же способами.

Банди (Bandi, 1903) ставил многочисленные опыты с эцидиоспорами *Phragmidium subcorticium*. Он переносил споры на нижнюю сторону листьев роз или кисточкой или пульверизатором. В результате заражения сначала развивались эцидии, а затем ложа уредоспор. Опыты с телейтоспорами этого гриба и остальных ржавчин роз, повидимому, не дали положительных результатов. Телейтоспоры вдобавок трудно прорастают. Согласно опытам автора с *Triphragmium* возможны те же приемы, что и с *Phragmidium rubi violaceum* (Клебан, 1907).

Kuehneola albida.

Заражение можно произвести легко с помощью уредоспор, высеивая их на нижнюю сторону листьев. С этой целью их счищают в воду и распыляют при помощи пульверизатора. Спустя приблизительно четыре недели появляются новые уредоложа (Клебан, 1912). Телейтоспоры встречаются часто между уредоложами и иногда только единично, так что с ними едва ли можно ставить опыты. Согласно Кюну (1912) иногда развиваются почти исключительно телейтоспоры. Якки (E. Jacky, 1907), который имел, очевидно, подходящий материал, накладывая листья с телейтоспорами на здоровые растения, получил первичные уредо. Споры этой формы, согласно Стрелину (1912), способны прорастать только после зимнего покоя и тогда могут вызывать вторичные уредо, но только на прошлогодних листьях.

Endophyllum.

Виды *Sempervivum* можно легко заражать простым рассеиванием телейтоспор *Endophyllum sempervivi*, прорастающих тотчас же после созревания, если держать растение во влажной атмосфере. Образование спор наблюдается на следующий год. Мюллер (W. Müller, 1908) заражал, перенося споры *Endophyllum Euphorbiae silvaticae* на почки корневища Euphorbia silvatica. Спермогонии, появившись на развившихся на следующий год побегах, дают на верхушечных изуродованных грибом побегах спермогонии и телейтоспоры.

Chrysomyxa.

Телейтоспоры *Chrysomyxa*, появляющиеся в довольно плотных подушечках, способны прорастать тотчас же после созревания. *Chrysomyxa abietis* образуют только телейтоспоры на иглах ели. *Chry-*

zomyxa rhododendri и *Chr. ledi* образуют эцидии на иглах ели, а уредо- и телейтоспоры на Rhododendron и видах Ledum. Другие виды недостаточно изучены. Чтобы заразить ель, лучше всего разложить проросшие телейтоспоры одним из вышеуказанных способов над развивающимися побегами ели и потом держать растение несколько дней под колоколом, чтобы вызвать развитие споридий, чтобы ростковые трубки их, попав на иглы, могли проникнуть в них (Рэесс, 1865, 1869; де-Бари, 1879).

Cronartium.

Это — более точно исследованные виды, меняющие хозяев; их эцидии (*Peridermium Strobi, P. Cornui* и др.) которые рассматривались раньше как *Peridermium pini f. corticola*, живут на коре различных видов сосны, а их уредо- и телейтоспоры на двудольных (Ribes, Vencetoxum и др.). Из всех ржавчинников они образуют самое большое количество эцидиоспор. Опыты искусственного заражения с ними поэтому очень просты, так как надо только перенести споры кисточкой на нижнюю сторону листьев питающего растения (Ribes, Vencetoxum).

Уредоложа, появившиеся как результат заражения, через 2—3 недели дают относительно очень мало спор, так что дальнейшие прививки ими при помощи кисточки недостаточно надежны. Лучше стряхнуть споры в воду и распылить их вместе с нею из пульверизатора.

Телейтоспоры появляются в уредоложах к осени в виде маленьких буроватых столбиков. Во влажном воздухе они тотчас же прорастают на еще живых листьях и тогда кажутся как будто покрытыми серой плесенью. В этом состоянии они годятся для опытов искусственного заражения. Чтобы производить опыты с *Cronartium ribicola*, надо взять листья Ribes, лучше R. nigrum и по возможности такие, которые целиком покрыты сосочками, состоящими из (лож) телейтоспор; заставляют споры прорастать во влажном воздухе; когда прорастание начнется, раскладывают листья на сетке над маленькими сосенками (Pinus strobus), посаженными в горшки, так, чтобы падающие споридии попадали на молодые побеги текущего года. Первые результаты можно ожидать в июне или июле следующего года. Тогда на иглах появляются желтые пятна, а на побегах, которые во время прививки были самыми молодыми, ближе к верхушке показываются слабые вздутия. Одновременно можно наблюдать своеобразный запах

спермогоний, и выступают капельки сладкого сока, содержащие спермации. В следующем году надо ожидать эцидии. По Клинтону (Clinton, 1917), который ставил такие опыты, грибница из игл через флоэму врастает в побеги. Опыты с *Cronartium asclepiadeum* ставятся так же.

Peridermium pini.

Оказалось, что среди грибов, которых раньше соединяли в форму *Peridermium pini f. corticola* существует один, который своими эцидиоспорами непосредственно заражает сосну (Pinus silvestris) и, повидимому, живет без смены хозяев. Он морфологически почти совершенно схож с *Peridermium cornui*, который является эцидиальной формой *Cronartium asclepiadeum* (см. в *Cronartium*), и его можно отличить только при помощи искусственного заражения — тем, что посев его спор на растения, питающие *Cronartium asclepiadeum*, в первую очередь на виды Vincetoxicum, — остается без результата. Заражение сосен производят простым посыпанием молодых побегов сосны в изобилии образующимися спорами. Результат можно ожидать, самое раннее, в следующем году. Где и каким путем проникают ростковые трубки, еще не установлено. Утверждают, что поранения, вызванные обрыванием игл или обрезыванием маленьких кусков коры на побегах, могут непосредственно способствовать заражению или повышать восприимчивость (Хакке, 1914; Клебан, 1918).

Coleosporium.

Европейские виды этого рода, до сих пор хорошо исследованные, все меняют своих хозяев; они образуют эцидии на иглах сосен (раньше их обозначали как *Peridermium pini f. corticola*) уредоспоры же и телейтоспоры на различных явнобрачных (Senecio и другие сложноцветные, Campanula, Alectorolophus, Melampyrum и т. д.). Телейстоспоры прорастают поздним летом или осенью, тотчас же после созревания, еще на живых листьях питающих их растений. В соответствующий момент можно вызвать их прорастание, если держать во влажных условиях на срезанных листьях. Положительный результат со споридиями был получен только на соснах (Pinus strobus и другие виды). Листья, усеянные телейстоспорами, проросшими на влажной пропускной бумаге, раскладывают на сетке над 3—5-летними сеянцами сосны, которые с этой целью выращивают в горш-

ках таким образом, чтобы выбрасываемые споридии могли попасть на иглы. Таким путем автор заражал сосны сперва грибком *Coleosporium tussilaginis*, потом *C. campanulae f. ranunculoïdes*. Оба эти гриба, произрастающие первый на белокопытнике, другой на Campanula ranunculoides, особенно подходят для этих опытов, так как нижняя сторона листьев этих растений часто бывает густо усеяна телейтоспорами и так как листья их достаточно долго можно сохранить срезанными без того, чтобы они завядали и покрывались плесенью. Фишер (1894, 1898), повидимому, таким же образом заражал сосну грибом *Coleosporium* с Senecio silvaticus, Sonchus asper, Inula Vaillantii и др. Затруднения бывают с *Coleosporium* на Rhinanthaceae, Alectorolophus, Melampyrum и др., так как срезанные листья последних очень быстро вянут и буреют. Автор получал хорошие результаты, высаживая в нужный момент в землю на открытом воздухе в горшках несколько маленьких сосен, где они оставались в течение нескольких недель среди большой группы Melampyrum (M. pratense), которые были обильно усеяны плодоношения гриба. Заражение было предоставлено естественным условиями.

Обратное заражение растений, питающих телейтоспоры, эцидиоспорами можно легко получить простым посыпанием их сухими спорами или же нанося их на листья в капле воды при помощи кисточки или пульверизатора. Положительные результаты получаются обычно без затруднений.

Точно также не требует специальных указаний дальнейшее заражение питающих растений уредоспорами. Иногда затруднения представляют сами питающие растения, особенно принадлежащие к группе Rhinanthaceae из родов Alectorolophus, Melampyrum и Euphrasia. Как известно, эти растения — полупаразиты и растут успешно лишь постольку, поскольку находят в почве корни определенных растений, из которых они со своей стороны черпают пищу. Виды Alectorolophus, A. minor и A. major живут на травянистых растениях, A. major также на злаках; их семена надо собирать во время созревания и тотчас же высеивать между растениями, которые еще раньше выкопали и посадили в соответствующие горшки. Эти горшки оставляют на зиму на открытом воздухе. Ранней весной семена начинают прорастать, и можно получить хорошо развившиеся растения. Точно так же можно поступать с видами Euphrasia. Для Pedicularis palustris берется кусок дерна с болотистой почвы. На основании собствен-

ных опытов автору кажется, что эти растения предпочитают в качестве хозяев Cyperaceae или другие болотные растения. Виды Melampyrum (M. pratense и nemorosum) паразитируют отчасти на кустарниках, как Corylus avellana, Salix capraea и др. Можно добиться их развития, если культивировать в горшке одно из питающих растений и в тот же горшок осенью посеять семена этих полупаразитов. Никогда нельзя получить хорошего результата, если эти растения в ранней стадии пересадить из почвы в горшки,—по крайней мере для видов, паразитирующих на кустарниках. Кроме того сами результаты опыта будут сомнительны по следующим соображениям: местами ржавчина сосны встречается очень часто; ее споры легко разносятся ветром, и возможно, что эти растения были заражены еще на воле. Это относится к большинству здесь рассматриваемых грибов и их хозяев. Эти растения не переносят слишком сырого воздуха, почему при опытах за этим надо следить и не оставлять их слишком долго под стеклянным колоколом или же колокол проветривать, подставив под его края шашки или маленькие цветочные горшки.

Ochropsora sorbi.

Этот гриб также меняет хозяев. Эцидиальная форма живет на Anemone nemorosa; его грибница зимует в главной оси и проходит по всем надземным побегам, которые вследствие этого растут иначе; листья густо усажены эцидиальными чашами с белымы спорами. Уредо и телейтоспоры образуют бледнобуро-желтые пустулы на нижней стороне листьев Sorbus aucuparia, S. terminalis, S. aria, Pirus malus, P. communis и др. родственных им. Опыты искусственного заражения можно производить на последних растениях обычным способом эцидиоспорами; но следует отметить, что результат получается только спустя 5 недель. Точно также не представляет никаких затруднений размножение гриба на этих растениях при помощи уредоспор. Заражение анемон требует особого метода. Телейтоспоры прорастают в августе или сентябре тотчас же после созревания. К этому времени никаких надземных частей анемон не остается. Так как ни телейтоспоры, ни споридии не переносят зимних холодов, то для заражения могут служить лишь подземные почки заложенных побегов, куда спородии, смытые дождем с листьев другого хозяина, попадают очевидно, вместе, с просачивающейся в почву водой. Для искусственного заражения лучше

всего употреблять анемоны, выращиваемые в широкой чаше и сильно развившие свои корневища. Сильной струей из водопровода смывают верхний слой почвы настолько, чтобы обнажить почки, но не повредить и оставить нетронутыми корни, находящиеся под ними в почве. Одновременно заготавливают листья с телейтоспорами, которые и проращивают. Когда образуется достаточное количество споридий, которые выступают из перидия ложа телейтоспор в форме белых капель, их стряхивают кисточкой в воду. После того как почки анемон достаточно обсохли, их смазывают повторно этой жидкостью, покрывают чашу стеклянной пластинкой или колоколом и оставляют, пока спородии не прорастут.

Спустя несколько дней чашу осторожно засыпают землей и оставляют зимовать, как обыкновенно. Часть прежде здоровых анемон, после того как им была сделана описанным выше способом прививка, дали в следующем же году листья, усеянные эцидиями. Возможно, что результат заражения проявляется только на второй год.

Melampsora.

Виды *Melampsora* большей частью меняют хозяев. Виды, сменяющие хозяев, образуют свои эцидии типа *Caeoma* частью на хвойных (Pinus, Larix, Abies), частью на однодольных (Allium, Galanthus, Orchis), частью на двудольных (Chelidonium, Corydalis, Ribes, Evonymus). Уредо- и телейтоспоры на видах Populus и Salix. Не меняющие хозяев известны на различных двудольных. Телейтоспоры, образующиеся в более или менее плотных коростинках, легко прорастают после зимнего покоя. Опыты искусственного заражения с ними очень просты и могут быть поставлены вышеописанными приемами. Затруднения возникают лишь вследствие спутанных отношений в смене хозяев. Как на Larix, так и на Ribes живет большое число саеома-форм, которые принадлежат к трудно отличимым телейтоспорам на различных тополях и ивах. Кроме того нередко телейтоспоры 2 или даже 3 видов бывают смешаны на одном хозяине, как, например, *M. ribesii-viminalis* и *M. larici-epitea* на Salix viminalis, *M. larici-populina* и *M. alliipopulina* на Populus nigra, *M. larici-tremulae*, *M. pinitorqua*, *M. Rostrupii* и *M. Magnusiana* на Populus tremula и др.

Иногда один вид гриба дает телейтоспоры предпочтительно или исключительно на верхней стороне, другой на нижней сто-

роне хозяина. Иногда одними и теми же листьями Salix viminalis можно заразить виды Ribes, если споридии образуются на нижней стороне, и виды Larix, если на верхней. То же самое наблюдается у листьев Populus nigra, усеянных грибом, по отношению к Larix (верхняя сторона) и Allium (нижняя). Эти грибы требуют еще исчерпывающего морфологического и экспериментального исследования. Если при исследовании окажется, что один и тот же „грибной материал", напр. на Salix viminalis, заражает два разных растения — Larix и Ribes, то спорами (Cacoma), полученными от этих обоих растений в тщательно изолированных опытах, следует заражать опять первое растение (Salix viminalis) и пытаться получить на нем телейтоспоры, а после зимнего покоя установить, будут ли они заражать тоже оба питающих растения (Larix и Ribes) или только одно из них.

С caeoma-эцидиями, встречающимися на лиственнице, едва ли возможно производить искусственные заражения, если для этого придется собирать материал на воле, так как отдельные ложа содержат очень мало спор, да и сами ложа бывают в ограниченном количестве. Легко собрать материал в том случае, если заразить лиственницу искусственно, так как тогда она обычно бывает обильно покрыта ложами гриба. Лучше всего поместить лиственницу в отдельной комнате, чтобы споры не разносились воздухом и не опадали. Если потом споры осторожно стряхнуть на стеклянную пластинку, то можно собрать их в достаточном количестве. Потом стеклянную пластинку, закрытую в стеклянной чашке, несут к опытному растению. Прививку проще всего производить, прикасаясь нижней стороной листьев подопытного растения к стеклянной пластинке, усеянной спорами, или же споры осторожно снимают с пластинки листьями растения.

Ввиду того, что некоторые рассматриваемые здесь грибы очень распространены в природе, рекомендуется растения, предназначенные для заражения, держать в оранжерее; если же это будет невозможно, то при оценке результатов опытов указанное обстоятельство нужно будет иметь в виду.

Некоторые виды *Melampsora* требуют более точного исследования путем искусственного заражения, как, например, виды на Hipericum (Клебан, 1905), на Linum и др.

Melampsoridium.

Melampsoridium betulinum меняет хозяев; форма уредо и телейто живет на березах, эцидиальная же — на лиственницах. Методы искусственного заражения те же, что и для *Melampsora*. *Melampsoridium carpini*, вероятно, тоже меняет хозяев, но эцидиальная форма его до сих пор неизвестна. Он обладает редкой особенностью: уредоспоры способны перезимовывать на воле, не теряя своей всхожести. Для опыта листья сохраняют в мешочках или цветочных горшках. Когда молодые листья Carpinus достаточно разовьются, споры стряхивают в воду и вместе с водой переносят на молодую листву (Клебан, 1907). Результат обнаружился спустя 14 дней.

Melampsorella.

Эцидиальная форма *Melampsorella caryophyllacearum* паразитирует на Abies pectinata, а форма телейто на разных Alsinaceae, например на родах Stellaria, Cerastium, Arenaria, но, повидимому, не на всех видах. На белой пихте гриб образует известные ведьмины метлы. Заражение Alsinaceae производится просто: их посыпают эцидиоспорами, развивающимися обычно в изобилии. Результат заражения, которое производят около начала июня, обнаруживается спустя 12—14 дней. Появляются уредоложа, споры, которых в течение лета можно переносить с листа на лист. Телейтоспоры появляются только следующей весной. Не совсем еще выяснено как лучше производить заражение пихт. Э. Фишер (1901), который обнаружил смену хозяев этого грибка, заставлял прорастать телейтоспоры, собранные 15 мая на открытом воздухе, со Stellaria nemorum, выдерживая их под стеклянным колоколом. Затем растеньица, несущие споры, он привязывал к молодым побегам пихты, только что вышедшим из почки, или же укреплял их так, что выбрасываемые споридии попадали на ось молодых побегов. Микроскопическое исследование дало возможность установить, что ростковые трубки могут проникать в эпидерму молодых осевых побегов. Результатом прививки было появление на некоторых побегах небольшого вздутия оси. Поскольку на этих вздутиях появлялись почки, то из них развивались побеги, характерные для ведьминых метел, а на листьях развивались спермогонии и эцидии (Фишер, 1902). Среди успешно зараженных побегов,

были как совсем молодые, так и такие, которые уже ушли вперед в своем развитии. Побеги сохраняют восприимчивость к заражению, повидимому, до конца своего роста в длину. Может ли гриб проникать в побеги через листья, еще не установлено.

Pucciniastrum.

Большинство видов *Pucciniastrum* — разнохозяйственные. Исследованы виды *P. abieti-chamaenerii* на Abies pectinata и Epilobium angustifolium и *P. circaeae* на видах Abies pectinata и Circaea. Для заражения телейтоспорами употребляют молодые, только что развившиеся, побеги пихты. Рекомендуют связывать их пучками (удобнее всего тонкой медной проволокой) так, чтобы молодые побеги образовали большую поверхность, а над ними, на проволочной сетке, разложить листья Epilobium, покрытые начавшими прорастать телейтоспорами. Позднее, когда с заражаемых побегов снимают стеклянный колокол, их следует развязать. Заражение Epilobium эцидиоспорами и размножение уредоспор производится обычными приемами. Вследствие нежности листьев видов Circaea, покрытых *P. circaeae*, сохранение их в течение зимы представляет затруднения. Благоприятные результаты были получены Фишером (1916) на особо удачном материале.

Thecopsora.

Thecopsora areolata также меняет своих хозяев. Уредо- и телейтоспоры развиваются на Prunus padus, Pr. Serotina и Pr. Virginiana, а эцидии — на елях (Picea excelsa). Гриб может заражать молодые побеги ели, развивая в них грибницу и образуя иногда на коре эцидии; нормальное развитие происходит только на чешуе шишек, а заражение на женских цветах. Заражение производится тем же приемом, что и у *Pucciniastrum*. Результат обнаруживается появлением известного запаха спермогониев и развитием грибницы в тканях. Побеги отмирают. Иногда спермогонии и эцидии образуются скудно. Заражение шишек можно производить только на воле, во время опыления цветов.

Для этого споридии счищали с прорастающих телейтоспор в воду и жидкость наносили кисточкой между чешуями женского цветка; шишки, цветы которых были заражены, покрывали мешочками из пергамента, которые спустя 3 дня, удаляли. В конце июня оказалась зараженной одна из 127 шишек, которым

была произведена прививка и которые за это время выросли. На зараженной шишке появились спермогонии, и ее сняли, чтобы исследовать спермогонии, — эту, до сих пор неизвестную, стадию. То обстоятельство, что остальные шишки оказались незараженными объясняется, вероятно, тем, что цветы к моменту прививки (10 мая) были слишком развиты. Для заражения Prunus padus необходимо воспользоваться перезимовавшими шишками с развившимися на них эцидиями, потому что хотя эцидии и образуются уже осенью, но споры тогда не прорастают. Собранные осенью шишки оставляют на зиму на воле. К середине мая эцидии остались еще без изменений, но после 2 дней сильных дождей они раскрылись и выбросили споры в большом количестве. Эцидиоспоры были перенесены на нижнюю сторону листьев Prunus padus 25 мая, и меньше чем через 4 недели из них появились уредоспоры. Заражение может быть произведено уже в конце апреля. Дальнейшие заражения уредоспорами производят обычным способом.

Calyptospora.

Телейтоспоры *Calyptospora Goeppertiana* появляются в форме кольцеобразных корок (струпьев) на вздувшихся наподобие ведьминых метл побегов брусники Vaccinium vitis idaea, а эцидии образуются на иглах белой пихты (Abies pectinata). Телейтоспоры прорастают после зимнего покоя, когда мертвые побеги достаточно пропитались водой (Гартиг, 1880, 1882). Тогда их можно разложить над только что распустившимися побегами (Abies pectinata) и таким образом дать возможность споридиям белой пихты опасть прямо на побеги, или же споридии собирают и наносят их иным способом. Чтобы заразить Vaccinium vitis idaea, эцидиоспоры наносят на поверхность молодой брусники.

Uredinopsis, Milesina, Hyalopsora.

Виды 3 родов, живущих на папоротниках, *Uredinopsis, Milesina и Hyalopsora,* отчасти, а может и все, меняют хозяев. Насколько до сих пор известно, их эцидии живут на иглах пихт, Abies pectinata и родственных с нею; своими снежнобелыми спорами они соответствуют прежнему эцидиальному виду *Aecidium pseudocolumnare* или *Peridermium balsameum*. Для искусственного заражения прибегают к тому же способу, что и у *Pucciniastrum*.

Заражение следует производить в момент распускания молодых побегов пихт. Срезанные вайи папоротника с находящимися на них телейтоспорами помещают на влажной фильтровальной бумаге, переносят в сырое помещение, где они и прорастают. Затем раскладывают на проволочной сетке над молодыми, предназначенными для заражения побегами. Как обычно, все это помещают дней на 5 под стеклянный колокол. У отдельных видов, в отношении их внешнего вида и появления телейтоспор, есть некоторые различия, и поэтому они требуют особого рассмотрения. Телейтоспоры *Hyalopsora polypodii-dryopteridis* появляются в половине мая на молодых листьях Phegopteris dryopteris; они заключены в эпидермальные клетки нижней стороны листа, но легко заметны потому, что пораженные клетки выступают небольшими вздутиями, и эти места становятся бледно окрашеными. Если листья держать влажными, то эти пятна покрываются белой или слабо-фиолетово-красноватой плесенью, которая состоит из промицелия и споридий. Благодаря этому легко убедиться в том, находятся ли споры в стадии, подходящей для заражения. Фрезер (Fraser, 1913), работая с американским материалом, получил эцидии на Asies balsamea, а собственные опыты автора (1916) с немецкими грибами (Саксонская Швейцария) дали на Abies pectinata результаты уже в следующем году: появились многочисленные спермогонии, но эцидий не было. *Hyalopsora polypodii* на Cystopteris fragilis в отношении своих телейтоспор проявляет себя точно так же, но опыты с ними до сих пор оставались без результата. Редкость гриба и трудность получить материал задерживают дальнейшие исследования.

Телейтоспоры *Milesina blechii* находят на буроватых пятнах зимовавших, но еще зеленых листьях Blechnum spicant. Они образуются поодиночке или группами в межклетных пространствах мезофилла и внешне незаметны. Точно также остается незаметно прорастание их. Как одно, так и другое можно обнаружить лишь под микроскопом. Чтобы произвести искусственное заражение телейтоспорами, нет другого способа, как проделать многочисленные испытания: маленькие кусочки листьев, в которых как по внешнему виду, так и по исследованию нескольких проб предполагается наличие телейтоспор, на авось раскладывают над только что распустившимися, еще нежно зелеными побегами и держат растение под стеклянным колоколом, наблюдая, чтобы споры проросли и выбросили свои споридии. Этим путем удалось получить обильное заражение и установить связь телейтоспор с

эцидиями белой пихты, соответствующими *Aecidium columnare* (Клебан, 1916). Развитие гриба на пихте идет медленно; заражение было произведено в половине мая, первый же результат проявился только во второй половине июня, а зрелые эцидии были замечены только в половине июля.

У *Uredinopsis struthiopteridis* находят телейтоспоры также на зимующих листьях, но места, в которых находятся споры, еще менее заметны, так как зимовавшие листья становятся бурыми и засыхают. Руководящими показателями могут быть пустулы ложурредо, в соседстве с которыми обыкновенно находятся телейтоспоры. Следовательно надо предварительно просмотреть части листьев, на которых имеются пустулы уредо, проверить на нескольких образцах наличие телейтоспор, а затем их все размочить в воде, положить верхней стороной на слой влажной пропускной бумаги и пользоваться ими для заражения указанным выше способом. Опыты, поставленные 11 мая, дали к концу мая желтоватые пятна, а начиная с 3 июня появились первые эцидии (Клебан, 1916).

О заражении папоротниковых эцидиоспорами ничего особенного сказать нельзя, так же как и о дальнейшем заражении папоротников уредоспорами, развившимися в результате их начального заражения. У *Hyalopsora polypodii* на молодых листьях папоротников одновременно с телейтоспорами появляются также уредоспоры, хотя заражения эцидиоспорами не было. Уредоспоры образуются двоякие: тонкостенные и толстостенные. При помощи тонкостенных гриб размножается в течение лета. С толстостенными никаких опытов еще не ставили. Они, вероятно, зимуют и весной вызывают заражение. На пораженных местах возникают телейтоспоры и уже упомянутые уредоспоры. У *Uredinopsis struthiopteridis* и *Melesina blechii* установлено заражение зимующими уредоспорами. У *Uredinopsis struthiopteridis* на зимовавших листьях после их пребывания в течение 24 часов во влажной атмосфере, из упомянутых выше пустул уредо выходят в виде маленьких белых шнурочков уредоспоры, своей формой отличающиеся от летних спор. Их можно легко снять, размешать в воде и употребить для прививки здоровых листьев папоротников. Спустя 2—3 недели на листьях возникают бурые пятна, из которых выходят в форме белых шнурков новые уредоспоры. Точно также и у *Melesina blechii* на бурых пятнах перезимовавших листьев выступают в форме таких же белых шнурочков уредоспоры. Прививкой их на здоровые листья вызывали

спустя 3 недели появление новых уредоспор. Вследствие упомянутых свойств уредоспор эти ржавчинники папоротников могут жить без смены хозяев, и поэтому их нередко находят даже в тех местностях, где пихты не встречаются (Клебан, 1916).

Arthur J. C. Cultures of Uredineae in 1899. Bot. Gaz., 29 (1900).

Baudi W. Beiträge zur Biologie der Uredineen. Hedw., 42 (1903).

Barclay A. On the life history of Puccinia coronata var. himalensis. Transact. Linn. Soc., 3 (1891.)

Bary A. de. Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. Ann. sc. nat., 4. Sér., 20 (1863).

— Neue Untersuchungen über die Uredineen. Monatsber. d. K. Akad. d Wiss., Berlin 1865. 1866.

— Accidium abietinum. Bot. Ztg., 37 (1879).

Bock R. Beiträge zur Biologie der Uredineen. Zentralbl. f. Bakt., (2) 20 (1908).

Bubak Fr. Uredo symphyti. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 21 (1903).

Carleuton M. A. Cereal rusts of the United States. U. S. Dep. Agric. Div. veg. phys. and path., Bull. № 16, 1899.

Clinton G. P. Infection experiments of Pinus strobus with Cronartium ribicola. Conn. agric. Exp. Station., Bull. 214 (1917) (18).

Cruchet. Contribution à l'étude biologique de quelques Puccinies sur Labiées. Zentralbl. f. Bakt, (2) 17 (1907).

Dietel P. Über Puccinia obscura. Ann. myc., 17 (1919).

Eriksson J. Über die Förderung der Pilzsporenkeimung durch Kälte Zentralbl. f. Bakt., (2) 1 (1895).

— und Henning E. Die Getreideroste. Stockholm 1896.

Fischer Ed. I. Über Gymnosporangium sabinae u. G. confusum. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., 1 (1891).

— II. Contributions à l'étude du genre Coleosporium. Bull. de la soc. bot. de France, 41 (1894).

— III. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen. Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz, 1, Bern 1898.

— IV. Fortsetzung der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze 1—17. Ber. des Schw. z. bot. Ges. 10 (1900); 11 (1901); 12 (1902); 14 (1904); 15 (1905).

— V. Accidium elatinum Alb. et Schw. Zeitschr. für Pflanzenkrankh., 11 (1901); 12 (1902).

— VI. Die Uredineen der Schweiz. Bern 1904. Beitr. zur Kryptogamenflora der Schweiz, 2, Heft 2.

— VII. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Uredineen 1—9. Zentralbl. f. Bakt (2) 15 (1905); 17 (1906); 22 (1908); 28 (1910).

— VIII. Studien zur Biologie von Gymnosporangium juniperum. Zeitschr. f. Bot., 1 (1909); 2 (1910).

— IX. Beiträge zur Biologie der Uredineen 1—6. Myc. Zentralbl., 1 (1912); 3 (1913); 5 (1914).

— X. Mykologische Beiträge 1—14. Mitt. d. naturf. Ges. in Bern, 1915, 1916, 1917, 1918.

— XI. Der Wirtwechsel der Uredineen Thecopsora sparsa und Pucciniastrum circaeae. Zentralbl. für Bakt. (2), 46, (1916).

Fraser W. P. Further cultures of heteroeciousrusts. Mycologia, 5 (1913).

Haack. Der Kieuzopf [(Peridermium pini) Wild]) Kleb. Zeitschr. f. Forst- u. Jagdw., 1914.

Hartig R. Lehrbuch der Baumkrankheiten. Berlin 1882.

Heinricher E. Die grünen Halbschmarotzer. I—VI Jahrb. f. wiss. Bot. 31 (1897).

Jacky E. Beitrag zur Kenntnis der Rostpilze II. Zentralbl. f. Bakt. (2), 18 (1907).

Jordi E. Weitere Untersuchungen über Uromycespisi. Zentralbl. f. Bakt. (2), 13 (1904).

Klebahn H. I. Bemerkungen über Gymnosporangium confusum. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., 2, 94 (1892).

— II. Kulturversuche mit Rostpilzen. Berichte 1—7, 10, 12—16. Zeitchr. f. Pflanzenkrankh., 2 (1892); 4 (1894); 5 (1895); 6 (1896); 7 (1897); 8 (1898); 9 (1899); 12 (1902); 15 (1905); 17 (1907); 22 (1912); 24 (1914); 26 (1916).

— III. Kulturversuche mit Rostpilzen. Berichte 8 u. 9; Jahrb. f. wiss. Bot., 34 (1900); 35 (1901).

— IV. Kulturversuche mit Rostpilzen. Bericht 11; Jahrb. d. Hamburger wiss. Anstalt, 20, 1902 (1903).

— V. Ein Beitrag zur Getreiderostfrage. Zeit. f. Pflanzenkrankh., 8 (1898).

— VI. Die wirtwechselnden Rostpilze. Berlin 1904.

— VII. Uredineen in Kryptogamenflora der Mark Brandenburg, 5a (1914).

— VIII. Peridermium pini (Wild). Kleb. und seine Übertragung von Kiefer zu Kiefer. Flora. N. F. 11 u. 12. Festschrift Stahl., 1918.

Krieg W. Experimentelle Untersuchungen über Ranunculusarten bewohnende Uromyces. Zentralbl. f. Bakt. (2), 19 (1907).

Kühn J. Chrysomyxa albida n. sp. Bot. Zentralbl., 16, 154 (1883).

Marshall Ward H. I. On pure cultures of a Uredinae. Puccinia dispersa (Erikss). Proc. of the R. Soc., 71 (1902).

— II. On the relations between host and parasite in the Bromes. Ann. of Bot., 16 (1902).

Müller W. Der Entwicklungsgang des Endophyllum euphorbia silvaticae. Zentralbl. f. Bakt., 2, 20 (1908).

— Zur Kenntnis der Euphorbia bewohnenden Melampsoren. Zentralbl. f. Bakt. (2), 19 (1907).

Oesterd A. S. Forelöbig beretuing om jagttagelser. Bot. Not., 1865; см. тоже Bot. Ztg. 23 (1865) и поздн. раб. автора.

Plowright Ch. B. An monograph of the British Uredineae and Ustilagineae. London 1889.

Probst R. Die Spezialisation der Puccinia hieracii. Zentralbl. f. Bakt. (2), 22 (1909).

Reess M. Die Rostpilzen der deutsche Coniferen. Abh. d. naturf. Ges. zu Halle, 11 (1869).

— Chrysomyxa abietis. Bot. Ztg., 23 (1865).

Schneider O. Experimentelle Untersuchungen über schweiz. Melampsoren. Zentralbl. f. Bakt. (2) 16 (1906); см. то же 25 (1910).

Strelin S. Beiträge zur Biologie und Morphologie der Kuuchncola albida. Myc. Zentralbl., 1 (1912).

Tavel F. v. Bemerkungen über den Wirtwechsel der Rostpilze. Ber. d. Schweiz. bot. Ges., 3 (1893).

Transchel W. Über die Möglichkeit, die Biologie wirtwechselnder Rostpilze auf Grund morphologischer Merkmale vorauszusehen. Trav. de la soc. imp. des nat. de St. Pétersbourg, 35 (1904).

— Beiträge zur Biologie der Uredineen. Trav. du mus. bot. de l'ac. imp. des sciences de St. Pétersbourg, 2 (1905).

Tubeuf C. Freiherr v. Infektionsversuche mit Accidium strobilinum. Arb. d. biol. Abt. d. Kais. Ges.-Amt, 2 (1901) 2.

— Infektionsversuche mit Uredineen. Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstw., 3 (1905).

3. Hymenomycetae.

Среди гименомицетов известно большое число таких, которые живут отчасти на живых древесных породах и вызывают болезни и гибель корней, стволов и ветвей, отчасти же поражают и разрушают мертвую древесину. Первые — паразиты, последние — сапрофиты; между обоими, вероятно, существуют переходы. Верно то, что многие из них не являются строжайшими паразитами в том смысле, чтобы они так же, как ржавчинники, могли заражать питающие их растения, а обычно нуждаются для этого в наличии легко доступных для проникания мест, как поранения или отмершие места, а также особого состояния восприимчивости питающего растения, которое не при всяких условиях возникает.

Исследования над *Hymenomycetae* были произведены Гартигом (1874—1878). Опыты искусственного заражения производились упомянутым автором в незначительном количестве следующих способом: части больной древесины или коры он накладывал на здоровые растения или же вкладывал их в соответственные поранения здоровых растений. Чтобы заразить *Fomes annosus* возбудителем красной гнили хвойных, он привязывал свежие куски коры, содержащие грибницу, к здоровым неповрежденным корням сосен и покрывал корни сперва мхом, а затем засыпал землей (1878). Точно так же поступал он с *Armillaria mellea*, пользуясь кусками коры, которые содержали ризоморфы, т.-е. склероцнобразные шнуры грибницы. Две из 4 сосен, которым была сделана прививка, погибли спустя год. Гартиг (1873—1874) производил заражение *Trametes pini* следующим приемом: высвер-

ливал Pressler'овским сверлом в здоровой древесине отверстия, в которые и вводил высверленную из больного растения древесину, а раны замазывал древесным воском. Спустя год дерево было пронизано грибом на 10 сантиметров от места заражения. Так как плодовые тела на деревьях моложе 60 лет встречаются лишь как исключение, то Гартиг (1878) предполагает, что на деревьях моложе 40—50 лет заражение не появляется. Тем не менее ему был известен один случай заражения 30-летнего дерева.

В новейшее время Мюнх (1909) ставил опыты с большим числом гименомицетов, которые являются более или менее паразитами-вредителями растений, но большей частью сапрофитически разрушают их древесину. Опыты были поставлены с целью выяснить влияние на гриба содержания в древесине воды. При этом различие между паразитами и сапрофитами не принималось во внимание. Для опытов были взяты виды *Stereum*, *Polyporus* (*igniarius*, *annosus* и др.), *Merulius*, *Pholiota*, *Collybia* и др. Куски здоровой свежей древесины, особенно же заболони, бука, ели, пихты, в различной степени насыщенные водой или высушенные, заражались грибницей из чистых культур. Живая свежая древесина, особенно же заболонь, богато пропитанная водой, была иммунна; поражались части, бедные водой.

Заражение стволов растущих на воле деревьев Мюнх (1909) ставил следующим образом. Часть ствола, предназначенного для заражения, очищалась ножом от коры и стерилизовалась раствором сулемы. Затем коловоротом, предварительно погруженным в раствор сулемы, а потом в спирт, высверливалось отверстие около 7 *мм* диаметра и 10 *см* глубины. Теперь простерилизованным в спирту ланцетом в отверстие вводили взятый из чистой культуры гриб и отверстие закрывали стерильным куском коры. Ватные пробки сосудов, в которых сохранялась чистая культура, и куски коры должны быть во избежание занесения посторонних микропаразитов смочены спиртом. Наконец место прививки сперва смачивали сулемой, а затем покрывали толстым слоем клея.

Кроме распространения грибницей естественное заражение происходит при помощи спор. Вследствие этого при опытах искусственного заражения следует учесть значение спор и прививать их частью на места, кажущиеся здоровыми, частью на отмершие или ослабленные места, а также на раны и пытаться создать условия, благоприятные для их прорастания.

Петибридж (1913) пытался заражать картофельные клубни грибком *Hypochnus*, вводя грибницу в ранки. Но ранки закрылись развивающейся пробковой тканью и заражение не состоялось.

Hartig R. Vorläufige Mitteilung über Parasiten der Waldbäume. Bot. Ztg., 31 (1873).

— Wichtige Krankheiten ider Waldbäume. Berlin 1874.

— Die Zersetzungserscheinungen des Holzes. Berlin 1878.

— Lehrbuch der Baumkrankheiten. Berlin 1882.

Münch. Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzpflanzen. Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landw., 7 (1909).

Pethybridge G. H. On the rotting of potato tubers. Scien. Proc. R. Dublin. Soc., 13 (1913).

4. Exobasidieae.

Виды рода *Exobasidium* образуют студенистые вздутия на молодых листьях и побегах своих питающих растений, напр. на Vaccinium, Rhododendron, Azalea и т. д. На поверхности вздутий, пронизанных грибницей, появляются базидии, споры которых у некоторых видов переходят к образованию почкующихся конидий. Они прорастают на искусственных средах, также давая почкующиеся конидии. Грибница при этом не образуется (*Exobasidium azaleae*).

У *Exobasidium vaccini*, согласно Воронину (1867), заражение происходит в том случае, если перенести споры на нижнюю сторону совсем молодых листьев. Спустя 8 дней появляются вздутия, а спустя 14 — новые споры. Собственные опыты автора заражать почки Azalea грибом *Exobasidium azaleae* не удались. При опыте автор наносил споры в воде на зачатки листьев и между ними. Так как у Azalea молодые части выходят из почек уже пораженными, то создается впечатление, что заражение происходит очень рано, уже в почках, или же что грибница перезимовывает в верхушках побегов или в почках.

Woronin M. Exobasidium vaccinii. Verh. d. naturf. Ges. zu Freiburg, 1867, Heft 4.

D. FUNGI IMPERFECTI.

Так называемые *Fungi imperfecti* обнимают собой те грибы, у которых мы знаем только конидиальные стадии, а иногда только грибницу. Высшие формы плодоношений их нам неизвестны, почему их нельзя ввести в систему грибов и только с некоторой вероятностью можно поставить в связь с формами, принадлежность к которым более или менее известна. Они очень многочисленны

и многие из них являются паразитами, возбудителями опасных болезней. Опыты искусственного заражения с ними представляют большое значение как для исследования болезней, так и для исследования их биологии и возможной связи с высшими формами плодоношений.

1. Sphaerioideae.

Sphaerioideae дают плодоношения в форме более или менее круглых закрытых образований. Примерами могут служить *Phyllosticta* и *Phoma* с одноклеточными конидиями, *Ascochyta* с двуклеточными, *Septoria* с многоклеточными нитеобразными конидиями и др. Паразитические виды живут на листьях, плодах, коре травянистых или одревесневших стеблей, иногда на клубнях и корнях. Если плодовые тела, после того как они созреют, держать влажными в стеклянной банке, то обычно из них выходят шнурки связанных конидий. Если теперь они попадают в воду, то тотчас же равномерно в ней расплываются. Поэтому получить чистые культуры очень легко. Для этого нужно снять острым ножом часть шнурка и перенести его в каплю стерильной воды. Таким образом будут получены почти чистые разводки. Если после дальнейших разбавлений сделать прививку на среду, то удается получить чистую культуру. В некоторых условиях представляется возможным отпрепарировать отдельные пикниды и с ними производить опыты, которые были указаны для Pyrenomycetae. При опытах искусственного заражения кисточкой переносят каплю воды, содержащей конидии, на восприимчивые части подопытного растения, которое потом содержат в течение нескольких дней под стеклянным колоколом. В общем при искусственном заражении удобнее работать с большими количествами, и если опыт ставится с настоящими паразитами, споры сапрофитов не мешают работе. Можно также просто перенести пораженные органы в воду, тогда конидии выходят в воду, и эту жидкость, содержащую обычно массу спор, наносят на подопытное растение кисточкой или пульверизатором. Само собой разумеется, что способ этот неприменим в том случае, если на одном листе имеется два различных паразита. Если требуется полнейшая чистота, то надо стремиться получить конидии из чистых культур, так как относительно целого ряда рассматриваемых грибов установлено, что они в искусственных культурах легко дают плодовые тела. Так как для многих видов *Septoria* доказана их связь

с сумчатыми плодоношениями из *Mycosphaerella*, то сказанное следует сравнить с тем, что говорилось относительно этого рода. Многочисленные Sphaerioideae живут на мертвой коре. Большинство из них сапрофиты, но некоторые безусловно паразиты, способные заражать растения, доступ в которые будет облегчен поранениями. Опытов с ними, повидимому, ставили мало. Следует сравнить сказанное относительно конидиальных стадий, например, у *Valsa, Botryosphaeria, Ceratostomella* и т. д.

2. Melanconieae.

Melanconiaceae образуют плоские ложа, возникающие под кожицей. Вследствие накопления конидий кожица приподнимается и затем разрывается. Конидии образуют скопления в форме бугорков или шнурочков. Отсюда их можно снять почти чистыми и, размешав их в стерильной воде, производить ими прививки или поставить чистую культуру. В чистых культурах обычно образуются конидии, которые также могут быть использованы для заражений. Очень богат видами род *Gloeosporium*. На него будет похож маленький род *Marssonia* с двуклеточными спорами. Сюда же примыкают более или менее другие, как *Asteroma, Actinonema, Leptothyrium, Cryptosporium* и т. д. Для некоторых видов установлена связь с сумчатыми плодоношениями. Интересно, что многие конидиальные плодоношения очень схожи друг с другом, например из рода *Gloeosporium* могут принадлежать к сумчатым плодоношениям таких различных родов, как *Gnomonia, Glomerella* и *Pseudopeziza*.

3. Hyphomycetae.

Hyphomycetae довольно различны как по своим формам, так и по свойствам.

Часть их образует пятна на живых листьях и других зеленых частях растений. Грибница, растущая внутри тканей, выводит наружу через верхнюю кожицу конидиеносцы, на которых образуются конидии. Последние легко опадают и разносятся ветром или насекомыми. Иногда поэтому их находят на собранном материале в незначительном количестве, и для того, чтобы иметь конидии в бо́льшем количестве, приходится пораженные растения держать в течение некоторого времени во влажном и совершенно спокойном месте. Если потом осторожно прикоснуться платиновой иглой к верхушкам конидиеносцев, то обыкновенно несколько ко-

нидий отделяются и остаются на игле, и их можно перенести в каплю агара во влажной камере, где они прорастут и где можно наблюдать их развитие. Соблюдая некоторую предосторожность, можно тотчас же получить чистые культуры. Чаще всего в чистых культурах также образуются конидии. Их размешивают в воде и используют ими для искусственного заражения. Для искусственного заражения можно пользоваться пораженными органами. Если имеется достаточное количество конидий, их стряхивают или сбрасывают на надлежащие части подопытного растения или же кисточкой счищают в воду и вместе с ней наносят на растения кисточкой или пульверизатором.

Сказанное относится прежде всего к родам *Ramularia, Cercospora, Ovularia, Cylindrosporium* и т. д. Названные роды обнимают, по крайней мере отчасти, настоящих паразитов, которые всегда заражают здоровые части их хозяев, если после прививки при условии достаточной влажности начнут прорастать.

Сюда примыкает целый ряд гифомицетов с бурыми конидиями, которых находят на больных местах листьев и зеленых побегов, — *Cladosporium*, *Heterosporium, Sporidesmium* и др. С помощью искусственного заражения среди них тоже различают отдельные виды настоящих паразитов, которые при достаточной влажности воздуха заражают здоровые части питающим растений, как, например, *Heterosporium echinulatum* на гвоздике (Даусон, 1913) *Cladosporium fulvum* на помидорах (Клебан, 1918). В других случаях, для того, чтобы состоялось заражение, повидимому, необходимо наличие у питающего растения известного состояния склонности к заболеванию, которое хотя и может быть вызвано известными условиями места и погоды, но суть его до сих пор неизвестна ближе, и которое поэтому трудно удается воспроизвести искусственным путем. Поэтому имеется мало указаний об успешных заражениях этими грибами, и нельзя указать никаких методов, которые бы наверное создали это состояние.

Род *Botrytis* включает многочисленные, очень схожие между собой виды, которые проявляют различную степень возможности заражения. Ясно выраженным паразитом будет *Botrytis parasitica*, живущий на тюльпанах (Клебан, 1904, 1905, 1907). Если зараженные растения держать влажными под колоколом, то гриб быстро распространяется, и задетые места покрываются массой конидиеносцев. Стряхиванием или непосредственным соприкосновением легко переносить конидии на новое растение. У тюльпанов

все части восприимчивы. У некоторых родственных растений (Crocus, Narcissus) поражаются только нежные лепестки, а не листва. Влажность окружающего воздуха имеет при заражении существенное значение. Если под стеклянный колокол поставить тюльпан с лепестками, посыпанными спорами, то уже на второй день на лепестках появляются серые пятна. Если поставить их в комнате без колокола, то заражение не появится; в оранжерее же или на открытом воздухе заражение будет зависеть от степени влажности в помещении или от погоды на воле. Конечной стадией развития гриба на пораженных частях растений будет появление склероциев в форме маленьких черных твердых телец величиною с булавочную головку. Они сохраняют гриб в течение периода покоя питающего растения. Их часто можно встретить на бурой кожице луковиц тюльпанов или на остатках прошлогодних стеблей. Чтобы произвести заражение при помощи склероция, осенью сажают в цветочный горшок вполне здоровую и свободную от склероциев луковицу тюльпана, а рядом с нею кладут несколько склероциев и оставляют горшок зимовать на воле, для чего зарывают его в землю и покрывают листьями. Появляющийся весной из земли побег оказывается пораженным, и, если потом некоторое время держать растение под колоколом, гриб разовьется обильно. Целый ряд дальнейших форм *Botrytis*, которые обнимают одним названием *B. cinerea* и которые морфологически мало отличаются от *B. parasitica*, ведут себя тождественно, и при опытах с ними применяются те же приемы (Клебан, 1904, 1905, 1907). Отчасти они — строгие паразиты, которые поражают определенные здоровые растения и сильно им вредят, другие, напротив, вполне безвредны — сапрофиты, поселяющиеся на отмерших побегах; наконец есть формы, которые являются переходными между этими двумя крайностями. Ввиду того, что эти отношения не вполне выяснены в отдельных случаях, для будущих опытов искусственного заражения они являются благодарным материалом.

К роду *Botrytis* причисляют также грибы, которые паразитируют на насекомых. *Botrytis Bassiana* вызывает мускардиновую болезнь гусениц шелковичного червя. Согласно де-Бари (1867, 1869) заражение производится конидиями через кожу, может быть, как у *Cordyceps*, через трахеи. Проникшие споры разносятся с кровью по всему телу. *Botrytis tenella* убивает гусениц майского жука (Дюфур, 1892).

Виды *Verticillium* вызывают болезнь увядания, так как они

развиваются в сосудах, которые более или менее закупоривают и таким образом задерживают доступ воды от корней к листьям. Лично автор ставил опыты с *Verticillium dahlia*, который вызывает эти явления на одном сорте *Dahlia* (Клебан, 1914). У одних растений небольшое количество чистой культуры вводили в раны на клубнях и у основания стебля, у других неповрежденные клубни покрывали большим количеством агара со склероциями из чистых культур и сажали в землю, к которой тоже примешивали чистую культуру. Чистые культуры получались таким путем: из стебля, наружно стерильного, брали кусочки внутренней ткани и прививали их на агаризованный салеп. У одного растения, зараженного таким образом, возник молодой побег, у основания которого оказалось загнивающее место, которое, может быть, служило местом для проникания гриба. Каким образом происходит заражение конидиями, возникающее позднее на увядающей листве, не установлено. Может быть они прорастают в почве, и здесь грибница поражает растения.

Уже Рейнке и Бертольд (Reinke и Berthold, 1879) производили успешные опыты искусственного заражения с *Verticillium alboatrum* на картофеле. Они вносили в поранения конидии, которые и попадали в сосуды. Сирикерман (Sprickermann, 1910(получал такой же результат, внося мицелий из чистых культур в поранения, доходящие до сосудов. В последнее время Вандер-Лек (van der Lek, 1918) успешно заражал огурцы и картофель, заражая или поврежденные растения или почву. (См. также Еггер—Jagger и Стевард—Stewart, 1918.)

Виды *Fusarium* рассматривают как причину многочисленных болезней, и в последнее время они являются предметом основательных исследований. Они легко растут на искусственных средах и в изобилии дают конидии, при помощи которых легко производить заражение. Заражение происходит или через раны или вследствие того, что растение почему-либо ослабло. Имеются также большие исчерпывающие морфологические исследования. Опыты искусственного заражения ставили, повидимому, немного. Хаскель (Haskell, 1916), например, заражал картофельное растение, вводя в поранения грибницу из чистой культуры.

4. Стерильные грибницы.

Sclerotium tuliparum, — это гриб, который до сих пор известен только в форме грибницы или склероциев. Попытки получить

конидии или споровые плодоношения в чистой культуре были безуспешны. Гриб убивает луковицы тюльпанов главным образом весной, перед тем как они раскрываются, и поэтому в голландских питомниках, случается, причиняет большие потери. Пораженные луковицы пронизаны грибницей, а снаружи на них обильно сидят белые, позднее буроватые чечевицеобразные склероции. Число их можно легко увеличить, если разрезать луковицы и держать их во влажном воздухе в стеклянной банке. Можно также отделить стерильно небольшую часть из большого склероция и на стерилизованных кусках луковиц разводить чистые культуры, в которых потом обильно образуются склероции. Опыты искусственного заражения можно ставить таким образом: осенью вносят несколько склероциев в почву, в которой следующей весной предположено высадить тюльпаны. Нет надобности, чтобы склероции лежали рядом с луковицей; заражение произойдет также в том случае, если их положить на краю цветочного горшка, в котором лежат предназначенные для заражения луковицы. От первой пораженной луковицы могут заразиться и другие, соседние, не очень от нее отдаленные. Заражение, очевидно, обусловливается грибницей, которая вырастает из склероциев и распространяется в почве (Клебан, 1905, 1907).

Стерильную грибницу, живущую на подземных частях различного рода растений, называют *Rhizoctonia*, которая, как указывает ее название, убивает корни. Вопрос ее связи с высшими формами плодоношений не выяснен. Предполагают, что грибница переходит от растения к растению в почве.

Прюне (Prunet, 1893) предполагает принадлежность ее к *Trematosphaeria circinans*, что подтвердил опытами искусственного заражения, поставленными с соблюдением всех предосторожностей, но относительно которых не сообщает никаких более подробных данных.

Опыты искусственного заражения бесплодной грибницей были предприняты Кингом (C. I. King, 1922) с вредителем хлопчатника (корневая гниль) *Rhizoctonia*, связь которой с (*Ozonium omnivarum Shear*) *Phymatotrichum omnivarum Shear* (Darger) была установлена в 1916 г. Кроме хлопчатника этот гриб поражает также люцерну и др. растения. Распространение грибка идет обыкновенно в почве концентрическими кольцами.

Исследования над грибком производились на опытной станции, основанной в 1907 г., где эта болезнь до того времени не замеча-

лась. Первые опыты по заражению здоровых растений были поставлены 21 августа 1922 г. Делалось это так: между двумя рядами нормально развивавшегося и обильно покрытого плодоношениями хлопчатника была выкопана канава 9 футов длины, 2—ширины и $2^1/_2$ — глубины. От главной канавы по направлениям к растениям были сделаны маленькие канавки, которые обнажали корни хлопчатника. Затем в контакт с корнями хлопчатника одного ряда кустов укладывали куски пораженного грибком корня; затем корни закрывали стерильным хлопком, поливали стерилизованной водой и засыпали землей. Корни растений в другом ряду, по другую сторону канавки, покрывали хлопком, поливали водой со свежесобранными спорами гриба и засыпали землей. Заражение при помощи мицелия было обнаружено спустя 21 день. Гриб был выделен в чистую культуру на стерильных кусочках корня хлопчатника, и полученный материал был использован для повторных опытов. Для контроля были оставлены 4 экземпляра. На этот раз болезнь обнаружилась через 12 дней почти одновременно по обеим сторонам канавы. Вскоре все растения погибли, включая и контрольные, которые были поражены мицелием, проникшим через почву от искусственно зараженных экземпляров.

5. Чернь.

Чернь обнимает собой разные мало известные грибы, большинство которых относятся к *Fungi imperfecti (Dematium, Cladosporium, Hormiscium, Coniothecium, Torula, Fumago* и др.) и которые образуют черные, как сажа, налеты на листьях. Это — не паразиты, они развиваются, когда на листьях имеется сладкое выделение листовых тлей. Об опытах искусственного заражения речь может быть только в том случае, если пытаются вызвать образование „черной сажи“ путем посева в чистую культуру отдельных составных частей (Негер, 1907).

Bary A. de. Zur Kenntnis insektentötender Pilze. Bot. Ztg., 25 (1867); 27 (1869).

Dowson W. J. On two species of Heterosporium, particularly Heterosporium echinulatum. Mycol. Zentralbl., 2 (1913).

Dufour J. Versuche mit Botrytistenella zur Bekämpfung von Maikäferlarven. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., 2 (1892).

Jagger J. C. u. Stewart V. B. Some Verticilliumdiseases. Phytopath., 8 (1918).

King C. I. Cotton root-yot in Arizona. Journal of Agric. Research 1923, Vol. XXII, № 7.

Klebahn H. I. Über die Botrytiskrankheit der Tulpen. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh, 14 (1904).

— II. Über die Botrytiskrankheit und Sklerotienkrankheit der Tulpen. Jahrb. d. Hamburger wiss. Anst., 22, 3. Beitr. (1904, publ. 1905).

— III. Weitere Untersuchungen über die Sklerotienkrankheiten der Zwiebelpflanzen. Jahrb. d. Hamb. wiss. An. 24., 3. Beitr. (1906).

— IV. Krankheiten des Flieders. Leipzig 1909.

— V. Krankheiten des Selleries. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., 20 (1910).

— VI. Beiträge zur Kenntnis der Fungi imperfecti. Myc. Zentralbl., 3 (1913).

— VII. Impfversuche mit Pfropfbastarden. Flora. N. F., 11 (1918).

— VIII. Haupt- und Nebenfruchtformen den Ascomyceten. Leipzig 1918.

Neger F. Experimentelle Untersuchungen über Russtaupilze. Flora. N. F. 10 (1917).

Peters L. Untersuchungen über die Krankheiten der Rüben. Arb. d. biol. Anst. f. Land- u. Forstw., 8 (1913).

Prunet A. Sur le Rhizoctonia de la Luzerne. Comp. rendus, 117 (1893).

Reinke Yund Berthold G. Die Zersetzung der Kartoffel durch Pilze. Untersuchungen aus d. Bot. Lab. d. Univ. Göttingen, 1 (1879).

Spieckermann A. Bakterienring und Blattrollkrankheiten der Kartoffel. Jahresber d. Vereinig. f. Angew. Bot., 8 (1910).

Zopf W. Die Pilze. Schenks Handbuch. d. Bot., 2 (1890).

A. M. Sigrianoky. - Culturing of fungi.

А. М. СИГРИАНСКИЙ

КУЛЬТУРА ГРИБОВ

ПИТАНИЕ ГРИБОВ.

Питание бесхлорофильных растительных организмов так же, как и у зеленых, по существу сводится к синтезу углеводов и белков, составляющих основу так называемой живой материи. Различие между теми и другими организмами в отношении питания сводится к различию исходного материала, за счет которого те и другие синтезируют углеводы и белки. Зеленые растения, так называемые автотрофы, способны строить органическое вещество непосредственно из минерального, в то время как так называемые гетеротрофы, к которым относятся прежде всего бактерии и грибки, не обладают этим качеством и питаются за счет тех органических веществ, которые вырабатывают зеленые организмы.

Различают два типа гетеротрофного питания: сапрофитическое и паразитическое. Сапрофитами называют те растения, которые потребляют органическую пищу в форме органических остатков растительного или животного происхождения.

В отличие от сапрофитов паразиты извлекают свою пищу из живого растения или животного, паразитируя на них или в течение всей своей жизни или же поселяясь на них на определенный период и в определенные стадии своего развития.

Несмотря на значительные биологические различия между теми и другими, в сущности их питание совершается за счет одних и тех же органических веществ. Доказательством этого может служить хотя бы уже тот факт, что значительное количество так называемых паразитов с успехом культивируется в лабораториях как на естественных мертвых субстратах, так и на искусственных средах вне всякой связи с другим живым организмом. Если же до сих пор многие паразиты не поддаются культуре в искус-

ственных условиях, то это зависит от того, что данные организмы требуют для своего питания наличия некоторых специфических веществ, которые они находят в определенных тканях живых растений и которые еще пока не учтены. Вне всякого сомнения, эти вещества будут распознаны, и вопрос о получении этих паразитов в искусственных культурах — вопрос времени.

В настоящее же время в целях чисто практических вопрос о культуре, чистой культуре таких организмов приходится разрешать в несколько иной плоскости — культивировать их на тех растениях или организмах, которые они обыкновенно поражают. Общие правила и последовательные стадии работ по подготовке грибка (спор и мицелия), а также по подготовке культур для заражения и приемы производства заражения изложены в печатаемом выше труде проф. д-ра Г. Клебан — „Методы искусственного заражения грибами“.

Основными веществами, необходимыми для питания гетеротрофных организмов, являются углеводы и белки; состав первых характеризуется наличием углерода, водорода и кислорода, а вторых, кроме того, — азота, затем серы, а также в некоторых еще фосфора. Кроме указанных элементов, для развития этих организмов необходимы еще калий, магний и железо.

Источники углерода. Как уже только что упоминалось, ни грибки, ни бактерии не способны усвоивать углерод в форме CO_2. Источником углерода для них могут служить лишь органические соединения и притом самые разнообразные, даже такие, которые характеризуются как отбросы других организмов или обладают явно выраженными ядовитыми свойствами, — как, например, уксусная кислота, этиловый и даже метиловый спирты, уксусный альдегид, муравьиная кислота и т. п. Найдены грибы, которые способны питаться даже парафиновыми углеводородами и произрастать на вазелиновом масле. Но это — как исключение. Лучшими источниками углерода являются сахары и те углеродистые соединения, которые легче всего перерабатываются в сахары. Что сахары являются лучшим источником углерода, подтверждается рядом исследователей. Так, проф. Р. Шода (R. Chodat), который отмечает у некоторых (всеядных) грибов наличие свыше десяти видов ферментов, указывает, что во всех случаях, когда этим грибкам предлагают смешанное органическое (углеродистое) питание, то они в первую очередь усвоивают сахар и те углеводы, усвоение которых требует затраты меньшего количества энергии,

а исследования проф. Г. Бестужева говорят, что степень питательности углеродистых веществ для всяких грибов зависит от той легкости, с какой происходит образование из них этих последних сахаров. В связи с указанной закономерностью лучшими источниками углерода являются:

I. Углеводы: а) моносахариды (виноградный и плодовый сахары, галактоза); б) дисахариды (тростниковый и молочный сахара); в) полисахариды (крахмал, инулин, пектин, инулин, клетчатка).

II. Многоатомные спирты — трехатомный глицерин, четырехатомный эритрит, шестиатомный маннит, сорбит.

Питательность спиртов для гриба Aspergillus niger Van Tieghem (Ф. Сларек) характеризуется следующей таблицей:

Этиловый спирт	0 мг
Этиленгликоль	74,3 „
Глицерин	288,6 „
Эритрит	323,8 „
d-Маннит	416,1 „
d-Сорбит	542,5 „

III. Хорошим углеродистым субстратом являются оксикислоты — яблочная, винная, виноградная, молочная, глицериновая, а также соли некоторых металлов этих кислот.

IV. Менее хороши ароматические кислоты, но и они могут служить источником углерода — например бензойная кислота.

V. По Р. Шмидту (R. H. Schmidt) с успехом можно предоставлять микроорганизмам органический углерод в форме жиров.

Автор предлагает жировой режим в следующей форме:

Азотнокислый калий	0,25 г
Сернокислый магний	0,25 „
Азотнокислый кальций	1,00 „
Фосфорнокислый калий (однозамещенный)	0,25 „
Азотнокислый аммоний	0,50 „
Дистиллированная вода	1 000,00 „

[1] Обнаружено на грибах низшего разложения и нет зависимости спиртов при равных прочих условиях.

На каждые 100 *куб. см* прибавить 1 *г* миндального масла, т.-е. жировое соединение предлагается в форме эмульсии в жидкой питательной среде. Твердые жиры для культур можно употреблять в форме тонких пластинок, которые вкладывают в застывающий агар в чашках Петри.

VI. Источником углерода могут служить также азотистые органические соединения. Однако опыт показал, что развитие микроорганизмов идет гораздо успешнее, если субстрат содержит, кроме органического азота, также хороший источник углерода, например сахар.

Источники азота. Грибки, равным образом и бактерии, столь строгие в своих требованиях в отношении к углероду, требуя его наличия непременно в форме органических соединений, оказываются менее взыскательными к азоту, почему все грибки, питающиеся за счет пептона, могут также жить за счет смеси сахара и различных азотистых соединений. Очевидно как сапрофиты, так, без сомнения, и паразиты в своем развитии зависят более от состава углеродистых соединений, находящихся в распоряжении питающего организма или в мертвом субстрате, чем азотистых, так как потребность в азоте может быть удовлетворена как аммиачными солями и аминокислотами, так и нитратами и нитритами.

Микроорганизмы способны получать азот из самых разнообразных источников. Можно даже сказать, что едва ли найдется такое азот осодержащее соединение, которое не могло бы служить источником азота для какой-нибудь группы микроорганизмов.

Некоторые грибки способны жить даже за счет элементарного азота. По Шталю (Stahel), *Graphium penicilloides var. Ungeri, Alternaria tennis, Macrosporium commune* и др. способны преуспевать на кремневом студне, содержащем:

Фосфорнокислый калий (однозамещенный) . .	1,0 *г*
Сернокислый магний	0,2 „
Декстрозу	50,0 „
Сернокислое железо	следы
Хлористый натр	следы
Воду	1 литр

Содержание связанного азота здесь равнялось приблизительно 0,0001%.

Другие грибки с успехом воспитывались за счет тех же солей, лишь кремневый студень был заменен 1,5% агара, содержание связанного азота в котором равняется 0,025%.

Далее микроорганизмы способны получать необходимый для развития азот из неорганических, азот содержащих солей, как это было установлено еще Пастером (Pasteur) и его учениками. Из неорганических соединений прежде всего усвоивается аммиак, затем азотная и азотистая кислоты. Аммиачные соли являются для грибов несомненно наилучшим источником азота; за ними следуют соли азотной кислоты — нитраты. Соли азотистой кислоты — нитриты — оказываются для грибков не так ядовиты, как предполагали раньше. Многие грибки, если не предпочитают, то, во всяком случае, пользуются этим источником азота. Рациборский (Raciborski) использовал эту способность некоторых грибков, выделяя их в чистые культуры методом элективных сред. Среда содержала 5% раствора сахарозы и 2% раствора азотистокислого натра.

Интересно отметить, что, по данным проф. Риттера, грибы могут усваивать даже свободную азотную кислоту.

Аммиак берется для культур в форме солей неорганических (азотной, серной, соляной, фосфорной) или органических (яблочной, виннокаменной, уксусной) кислот. Последние соли (органических кислот) могут служить одновременно источником азота и углерода. По наблюдениям проф. Г. Э. Риттера, грибки тем охотнее ассимилируют азот из аммиачных солей, чем слабее будут свободные кислоты, входящие в состав этих солей. При питании сахаром некоторые грибки одинаково хорошо усваивают как нитраты, так и аммиачные соли (Лоран — Laurent).

Еще другим источником азота могут служить органические азот содержащие соединения. В отношении их установлено, что в большинстве случаев они могут служить для целей питания микроорганизмов лишь после их минерализации, и при питании органическим азотом небелкового характера микроорганизмы прежде всего отщепляют аммиак или азотную кислоту за счет которых и покрывают свою потребность в азоте. Хотя экономически, с энергетической точки зрения, это будет невыгодно, но, тем не менее, для многих микроорганизмов органический азот имеет бо́льшее питательное значение, чем аммиак.

Наконец существует ряд микроорганизмов, которые отдают предпочтение готовым белковым веществам — пептону и аминокислотам.

Усвояемость минеральных соединений азота, по мнению Молиша (Molisch), зависит от степени электролитической диссоциации их растворов и питательного достоинства их катионов. По проф. С. Костычеву, питательное значение источников азота зависит от большей или меньшей легкости образования за их счет аммиака при отсутствии вредных побочных продуктов и в особенности повышенной кислотности (ср. выше — проф. Г. Э. Риттер).

Следует помнить, что если при выборе углеродистого питания микроорганизмов приходилось учитывать имеющийся в наличии источник азотистого питания, так еще в большей степени для легкости усвоения разных источников азота имеет значение углеродистое питание, так как в углеродистых соединениях организм черпает энергию, необходимую для соответствующей перестройки азотистых соединений Также необходимо отметить, что форма углеродистого и азотистого питания стоит в зависимости от возраста и состояния организма и имеющихся в наличии внешних условий. Можно отметить целый ряд грибов, споры которых неспособны прорастать при наличии тех питательных веществ, за счет которых проросшие грибки способны развиваться дальше.

Зольные элементы. Кроме углерода и азота микроорганизмы нуждаются для своего питания в минеральных солях. Впервые их необходимость опытно была установлена еще Пастером, а его учеником Роленом доказано, что в зависимости от наличия и состава минеральных веществ в субстрате находится более или менее продуктивное использование органического вещества. Питательная среда, подобранная Роленом для грибков, содержит на

1500	г	воды
70	„	тростникового сахара
4	„	винной кислоты
4	„	азотнокислого аммония
0,6	„	фосфорнокислого аммония
0,4	„	сернокислого магния
0,6	„	углекислого калия
0,25	„	сернокислого аммония
0,07	„	сернокислого цинка
0,07	„	сернокислого железа

Впоследствии состав питательной среды был значительно упрощен, но все позднейшие исследования подтвердили, что грибки нуждаются для своего нормального развития в следующих пяти зольных элементах — фосфоре, сере, калии, магнии и железе. Кальций, столь необходимый для развития высших зеленых растений, — для грибков, или, по крайней мере, для многих из них, является излишним.

Особое значение, конечно, имеют сера и фосфор, так как оба эти элемента входят в состав белковых веществ: сера является составной частью всех вообще белков, а фосфор входит в состав важнейших соединений протоплазмы — нуклеинов, глобулинов, лецитинов и др. Следует отметить, что оба эти элемента усваиваются в форме высших окислов: солей серной и фосфорной кислот. Соли сернистой и серноватистой, а также фосфористой кислот в большинстве случаев не только непригодны для питания, но проявляют даже резко ядовитые свойства. Лишь некоторые грибы оказываются способными использовать низшие окислы серы.

Калий не входит в состав белков, но тем не менее значение его для жизни организмов огромно. В золе низших, бесхлорофильных организмов калий составляет до 60% всей золы. Все попытки заместить его другими металлами потерпели неудачу.

Также незаменимым оказался и магний, хотя он находится в организмах в меньшем сравнительно с калием количестве. Магний подобно калию не входит в состав живой материи, он входит лишь в органические соединения; предполагают его роль в физиологических синтезах.

По Кюстеру (Küster), потребность грибков в зольных веществах полностью покрывается добавлением к питательной среде 0,2% сернокислого магния и фосфорнокислого калия. Брефельд получил те же результаты, добавляя к среде 0,25—0,5% золы от сигары.

Подобно зеленым растениям грибки нуждаются в присутствии железа, хотя его роль для последних очевидно будет иная. Очень возможно, что на-ряду с калием и магнием он также необходим для нормального химического строения протоплазмы. Заменить железо близкими к нему по химической природе элементами вроде марганца оказалось невозможным, хотя количество потребного для грибов железа оказывается настолько незначительным, что порою потребность в нем покрывается

тем количеством, в каком он попадает в среду в форме примесей к другим входящим в состав среды веществам. Железо усваивается как в форме солей закисей, так и солей окисей. Его чаще всего употребляют в виде фосфорнокислой или хлорной соли.

Цинк, указываемый Роленом как необходимый для грибных организмов элемент, фактически играет роль катализатора, стимулируя рост грибка так сильно, что при добавлении его к среде в виде его сернокислой соли в количестве 0,003% по весу вызывает увеличение сухого веса грибка вдвое.

Подобное же стимулирующее влияние оказывает также литий.

Что же, наконец, касается кислорода и водорода, то потребность в них покрывается за счет воды, без которой невозможно ни одно жизненное проявление, а кислород кроме того поглощается организмами в свободном состоянии из окружающего воздуха. Анаэробов среди грибов нет.

Только что упоминалось, что без воды невозможно ни одно жизненное проявление. Причина этого лежит в тех особенностях, которыми обладает вода и благодаря которым она становится наилучшей средой, в которой протекают все физиологические процессы. Особенно ценной особенностью воды является ее нейтральность, далее ее способность к электролитической диссоциации и ее диссоциирующая сила в отношении веществ, растворимых в ней. Благодаря этому не только подготовляется процесс усвоения, но и создается реакция среды, которая влияет на процессы превращения в организме, на физическое состояние живой материи и работу ферментов.

ЧИСТЫЕ КУЛЬТУРЫ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ.

Культура грибков в лаборатории имеет целью получить так называемые чистые культуры. В природе скопления микроорганизмов, считающиеся однородными, по существу являются случайной ассоциацией различных существ. Наблюдения за одним организмом в этих условиях затушевываются влиянием, оказываемым другими, входящими в смесь, организмами. Затруднения встречаются как при изучении морфологии, так и истории развития и особенно физиологии грибка. Изучение строения грибка и состояния его в различных стадиях развития, изучение его форм плодо-

ношений и т. д. возможно лишь при условии наличия его в чистой культуре. Еще большее значение они имеют для установления цикла его развития, выяснения смены и чередования фаз развития, выяснения условий, влияющих на возникновение или угасание той или иной фазы развития. Наконец изучение физиологии питания и физиологии обмена веществ возможно лишь только при пользовании чистыми культурами. „Чистые культуры" приобрели еще большее значение, когда их начали употреблять для искусственного воспроизведения болезненного состояния как животных, так и растительных организмов с целью изучения влияния паразитов-возбудителей болезни на питающий организм.

Во всех этих случаях необходимо, чтобы культура была однородна по своему составу и своим качествам. Лишь поколение (культура), имеющее происхождение от одной единственной клетки, может быть однородным и в полной мере сохранить индивидуальные особенности той клетки, от которой оно произошло. Таким образом чистой культурой в строгом смысле слова можно назвать лишь культуру, происшедшую от одной клетки.

ПОСУДА.

Основным требованием чистой культуры являются ее чистота и гарантия от занесения в нее посторонних организмов (ее загрязнения), которые, развиваясь одновременно с изучаемым организмом, дадут превратное представление о последнем. В связи с этим требованием является необходимым наличие обеспложенной (лишенной присутствия в ней микроорганизмов и их зародышей) среды и условий, препятствующих внесению в культуру посторонних существ (инфекция). Первое достигается употреблением стерилизованных сред, а второе — специальной посуды и особыми приемами.

Для культур преимущественно употребляются пробирки, колбы и чашечки.

Рис. 1. Пробирка Глобига для культуры микроорганизмов на картофеле.

Пробирки, употребляемые для культур, бывают двоякого рода: обыкновенные химические (наиболее удобны 16 *см* длины и 16 *мм* в диаметре) (рис. 2) или специальные, с перехватом внизу (пробирки Глобига) (рис. 1). Первые употребляются для искусственных твердых (плотных) сред — желатинизиро-

ванных или агаризованных. В каждую пробирку наливают около $^1/_4$ или $^1/_3$ ее объема питательной среды, закрывают ее пробкой из ваты, стерилизуют и оставляют остынуть или в прямом положении (стоймя), или в наклонном (косой агар или желатина) (рис. 2а). Во втором случае поверхность среды, на которой культивируется организм, будет больше, что дает известные преимущества. Эти же пробирки употребляются для жидких питательных сред — молока, растворов, вытяжек, хотя для таких сред в большинстве случаев являются более удобными колбы. Глобиговские пробирки употребляются при пользовании естественными твердыми субстратами — морковью, картофелем и т. д. В этом случае из моркови, картофеля и т. д. вырезается особым сверлом (рис. 3) известной длины цилиндр, который разрезается наискось пополам, и каждая часть вкладывается в отдельную пробирку косым срезом вверх. Нижним тупым концом цилиндр упирается в перехват. Выделяющаяся во время стерилизации вода скопляется на дне пробирки ниже перехвата. Те же результаты можно получить и с химическими пробирками. Для этого на дно пробирки опускают небольшой кусок стеклянной палки или трубки, который не позволяет субстрату опускаться до дна (см. рис. 2б). Эти пробирки также закрываются ватой, стерилизуются и хранятся до использования. Для хранения пробирки вкладываются вертикально в особые коробки, в которых они и хранятся. Для более быстрого осмотра культивируемых в пробирках грибков (или бактерий) их помещают в обыкновенных, употребляемых в химических лабораториях, деревянных штативах (рис. 4). Прибегать к их помощи приходится во всех случаях, когда имеем дело с жидкими средами.

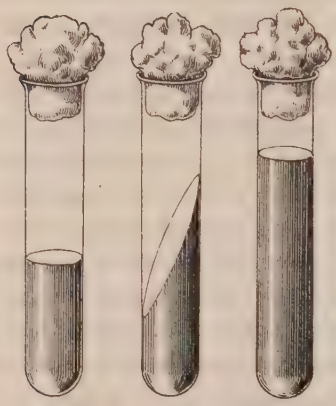


Рис. 2а. Обыкновенные пробирки, употребляемые для культуры микроорганизмов на жидких и плотных средах: *a* — „прямой агар (желатина)“; *b* — „косой агар (желатина)“.

Как уже упоминалось, в некоторых случаях, когда приходится прибегать к употреблению жидких сред и необходимо иметь особенно большую площадь для посева чистых культур, пользуются колбами, и предпочтительно конусообразными с широким дном колбами Эрленмейера (рис. 5).

Для поддержания стерильности среды в пробирках и колбах их закрывают пробками из ваты еще до стерилизации. Преимущество этих пробок состоит в том, что они, препятствуя проникнанию в культуру посторонних организмов и их зародышей, в то же время не мешают доступу воздуха и вообще газовому обмену. Требуется, чтобы пробки были сделаны правильно. Это необходимо, с одной стороны, для большей гарантии против заноса инфекции, а с другой — для удобства работы. Рис. 6 показывает, как выглядит правильно сделанная пробка, а рис. 7 показывает прием изготовления пробок. Во избежание растрепывания пробок во время работ их тщательно скатывают, а перед открыванием пробирки или колбы, вращая их, предварительно отрывают приставшие к стен-

Рис. 2б. Обыкновенная пробирка, употребляемая для культуры микроорганизмов на естественных твердых субстратах: картофеле, моркови, сахарной свекле и т. д.

Рис. 3. Сверло (пробой) для вырезывания цилиндров из твердых субстратов (картофеля, моркови и т. д.), на которых культивируют микроорганизмы.

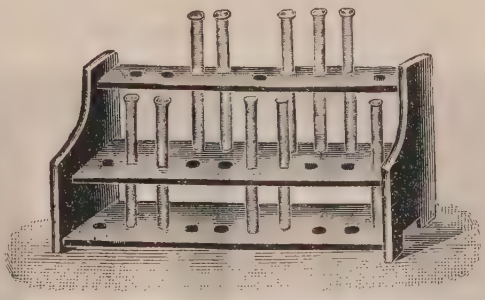


Рис. 4. Деревянный штатив для пробирок, употребляемый для культур на жидких средах.

кам волоски ваты. Вата должна быть хорошего качества, из длинного волокна.

Также во избежание заноса инфекции пробки и верхние края пробирок и колб, а также и все инструменты, которые употребляют для работ с культурами после стерилизации среды, предварительно (перед открыванием пробок и перед внесением в пробирку или колбу инструмента) обжигают в пламени газовой или спиртовой горелки (см. ниже).

Кроме пробирок и колб с большим удобством применяются

предложенные для работ с микроорганизмами еще в 1887 г. чашки Петри. Каждая чашка Петри состоит из двух чашек, из которых одна служит крышкой для другой (рис. 8). От хороших чашек Петри требуется, чтобы края чашки, которая служит сосудом, были ровно обрезаны, а вторая чашка, которая служит крышкой, должна

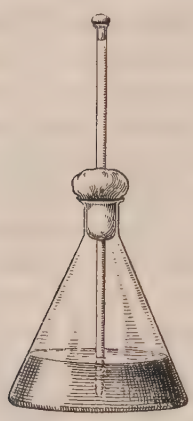


Рис. 5. Эрленмейеровская колба с пипеткой для хранения стерилизованных растворов.

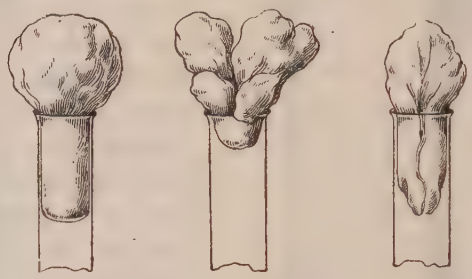


Рис. 6. Слева — правильно сделанная ватная пробка, а в средине и справа — приготовленные неправильно.

свободно накрывать первую и своим дном плотно примыкать к обрезу стенок первой. Наиболее удобный размер чашек: 8—10 *см*

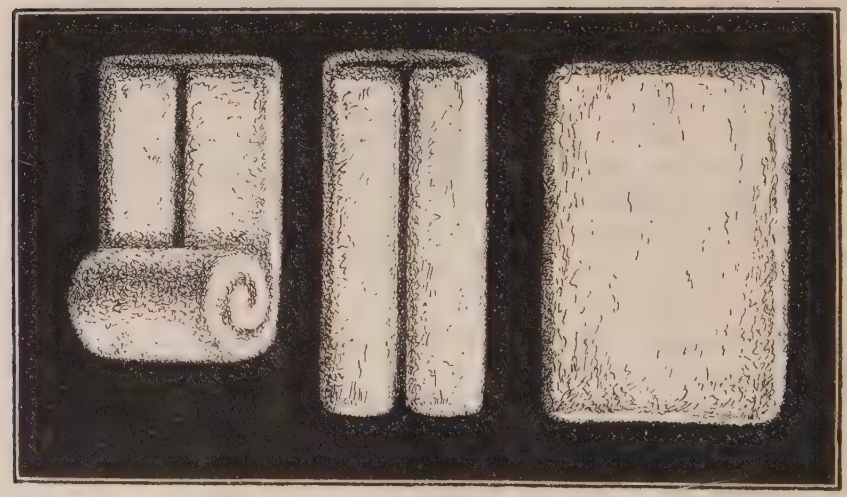


Рис. 7. Приготовление ватных пробок: справа плоский кусок ваты, в средине — тот же кусок ваты после загиба его краев, слева — скатывание пробки.

в диаметре и 1,5 *см* высоты. Иногда употребляются чашки

большего диаметра. Эта посуда очень удобна для культур микроорганизмов как на искусственных плотных средах, так и на естественных твердых субстратах — пластинках картофеля, листьях, побегах и т. д. Некоторое неудобство их состоит в том, что культуры в них скоро подсыхают. Чтобы избежать этого, чашки Петри помещают в другие двойные чашки бо́льшего размера или сохраняют их под колоколом. Особое преимущество чашек Петри состоит в том, что культуры, выращиваемые в них, возможно рассматривать под микроскопом (при слабых увеличениях), не касаясь их, а помещая чашки на столик микроскопа.

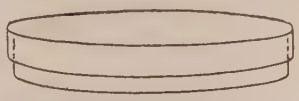


Рис. 8. Чашка Петри.

Посуда должна употребляться стеклянная.

СТЕРИЛИЗАЦИЯ И ПРИЕМЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ.

Как уже упоминалось, среда, предназначенная для выращивания чистых культур, а равно и употребляемая при этом посуда должны быть бесплодными (свободными от организмов и их зародышей), что достигается их стерилизацией; следовательно стерилизацией по существу и называется уничтожение микроорганизмов и их зародышей. Стерилизация достигается различными приемами в зависимости от природы и особенностей стерилизуемого предмета или вещества: применением высоких температур, применением фильтрования через пористые перегородки и путем применения химических веществ.

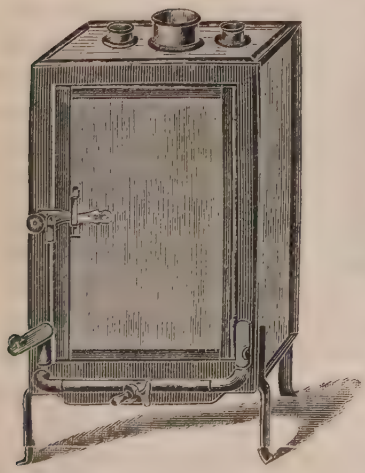


Рис. 9. Печь Пастера с двойными стенками для стерилизации сухим жаром стеклянной посуды.

Для стерилизации высокой температурой применяются следующие приемы: нагревание сухим жаром, нагревание в парах воды под давлением, нагревание в текучем пару и кипячение в воде.

Стерилизация сухим жаром. В этом случае стерилизация возможна простым прокаливанием в пламени горелки (платиновые иглы, пинцеты, ножницы, стеклянные трубки, пипетки и

пр.). Если приходится стерилизовать большое количество посуды или крупные предметы, то их прогревают при температуре до 150—170° С в особых аппаратах с двойными стенками,

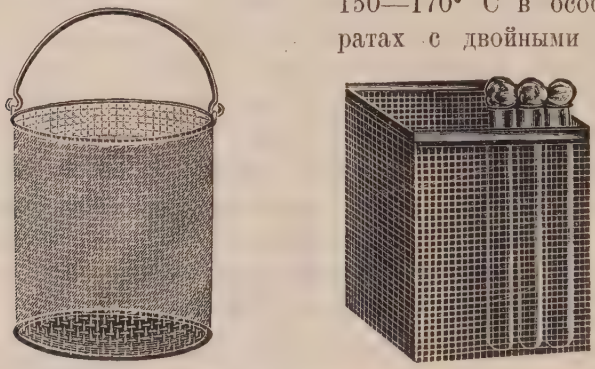
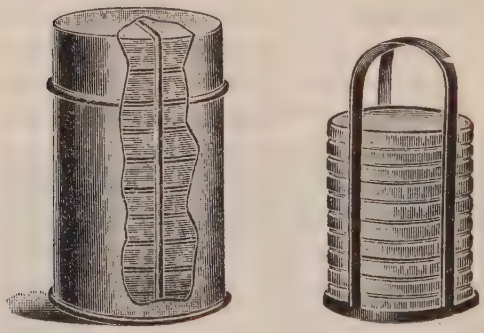


Рис. 10. Проволочные корзины для помещения пробирок при стерилизации.

так называемых пастеровских печах (рис. 9), подогреваемых снизу горелкой. Мелкую посуду — пробирки, колбы — предварительно закрывают ватными пробками и помещают в корзинки (рис. 10), а чашки Петри предварительно завертывают каждую пару в отдельности в лимонную или обычную оберточную бумагу, а затем завертывают по несколько в одну общую бумагу или закладывают в особые зажимы (рис. 11). Стерилизация длится обыкновенно от 1 до 2 часов.



а *б*

Рис. 11. Цилиндр (*а*) и вставка (*б*) для стерилизации, хранения в стерильном виде и переноски чашек Петри.

Стерилизация в автоклаве. Стерилизация сухим жаром не всегда применима, особенно же она непригодна для стерилизации питательных сред, в которых под влиянием сухой и столь высокой температуры могут происходить превращения и изменения ее составных частей. В этих случаях стерилизация производится насыщенным паром под давлением в так называемых автоклавах. Автоклавом (рис. 12) называется толстостенный котел, герметически закрывающийся крышкой. Крышка автоклава бывает снаб-

жена трубкой с краном для прохода воздуха и пара и манометром для определения силы давления пара внутри котла. Наконец здесь же имеется предохранительный клапан для выделения пара, если внутреннее давление перейдет определенную границу. В некоторых случаях клапан сдерживается пружиной, которая позволяет нагревать котел до определенного, обыкновенно в 2 атмосферы, давления, или же особым грузом на рычажке. Передвигая груз по рычажку, можно регулировать действие клапана (предохранителя). На рычажке обыкновенно имеются деления, которые указывают, при каком давлении пара помещенный здесь груз будет открывать предохранительный клапан.

Каждому давлению соответствует определенная температура. При давлении в 1,5 атмосферы температура равна 112° С
„ „ „ 2 „ „ „ 121° С и т. д.

При нагревании до 120—121° в течение 20—30 минут стерилизация бывает обыкновенно полная, и нет надобности прибегать к более высоким температурам.

Пользуются автоклавом так: на дно его наливают воды, а над ней, на подставке, помещают стерилизуемые предметы. Иногда их укладывают в металлические (из оцинкованной проволоки) корзинки (рис. 10). Теперь автоклав закрывают крышкой и плотно завинчивают. Проверяют, чтобы кран для воздуха был открыт и ставят под автоклав сильную зажженную горелку. Желательно, чтобы вода в автоклаве начала кипеть возможно скорее. Образующиеся пары начинают выходить через кран и увлекают вместе с собой находящийся в автоклаве воздух. Кран оставляют открытым до тех пор, пока весь воздух из автоклава не будет изгнан. Чтобы убедиться в этом, достаточно бывает посмотреть выделяющийся пар со стороны падающего света. Если в котле имеется еще воздух, пар выходит прерывающейся пузырьками воздуха струей. Когда весь воздух будет удален, пар будет выходить ровной, беспрерывной струей. Другой прием состоит

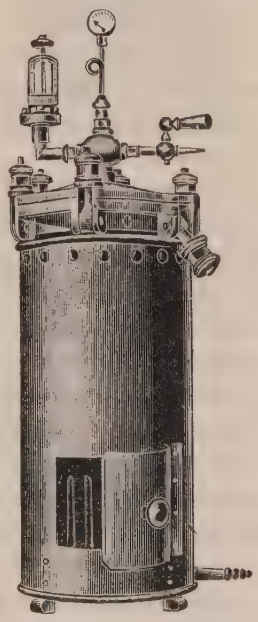


Рис. 12. Автоклав для стерилизации насыщенным паром под давлением. Вверху слева — предохранительный (пружинный) клапан, в средине — манометр, справа — кран для выпускания воздуха и пара.

в том, что струю пара пропускают через сосуд с водой. Если пар содержит в себе воздух, то, проходя через воду, издает треск. Полное удаление воздуха из автоклава необходимо для успешности стерилизации, так как действие пара на микроорганизмы и их зародыши сильнее смеси пара с воздухом. Когда весь воздух выйдет, кран закрывают и следят за стрелкой манометра. После того как давление достигнет соответствующего напряжения, пламя горелки уменьшают с тем расчетом, чтобы поддерживать в автоклаве нужное давление. Давление поддерживают в течение 15—20 минут, затем горелку удаляют и ожидают, когда давление падет до 0 (т.-е. когда стрелка манометра в своем обратном движении достигнет исходной точки). Ждут еще некоторое время и осторожно открывают кран для доступа воздуха и тем выравнивают внутреннее давление (в автоклаве) с наружным. Только теперь отвинчивают и снимают крышку. Если открыть кран слишком рано, когда давление в автоклаве будет еще значительным, то возможно вскипание жидкости в сосудах, благодаря чему закрывающие их пробки будут выброшены или во всяком случае смочены.

Стерилизация в текучем пару. В некоторых случаях, даже указанная t^0 (в 112—120 градусов С) оказывает вредное влияние на среду, и для стерилизации таких сред приходится прибегать к коховскому кипятильнику, к стерилизации в текучем пару. Вместо коховского аппарата с той же целью можно использовать обыкновенный автоклав. При пользовании автоклавом кран для выделения пара остается открытым в течение всего времени стерилизации. Коховский аппарат или кипятильник (рис. 13) состоит из закрытого снизу цилиндра (из оцинкованного железа), обложенного снаружи, чтобы уменьшить излучение тепла в окружающую среду, каким-нибудь плохим проводником тепла — линолеумом, асбестовым картоном или шерстяным войлоком. Цилиндр укрепляется на ножках и под его дно помещают горелку. Сверху он закрывается свободно снимающейся крышкой. На дно цилиндра наливают воды и на особой подставке помещают предназначенные для стерилизации предметы. Образующийся при кипячении пар охватывает стерилизуемые предметы и постепенно прогревает их до своей собственной температуры. Затем пар выходит наружу через отверстие в крышке аппарата. Стерилизация длится в зависимости от предмета и его величины от $^1/_2$ часа до часу и даже двух за один раз и повторяется обыкновенно в течение не-

скольких дней под-ряд. Значение этой, так называемой фракционной стерилизации состоит в том, что грибки и их споры, а также вегетативные клетки бактерий погибают при этой и даже несколько низшей температуре при первой же стерилизации, и сохраняются лишь споры бактерий. В течение 24 часов споры обыкновенно успевают прорасти и их убивают новой стерилизацией на следующий день и т. д. При этом надо иметь в виду, что повторная стерилизация достигнет своей цели в том случае, если стерилизуемая среда в промежуточное между двумя стерилизациями время будет находиться в благоприятных для прорастания спор условиях. Например пребывание в холодном помещении может задержать прорастание спор на несколько дней, и повторные стерилизации не достигнут своей цели.

Рис. 13. Аппарат (кипятильник) Коха для стерилизации текучим паром. Последний свободно выходит через щели неплотно закрывающейся крышки.

Стерилизацию некоторых мелких предметов, не боящихся воды, возможно производить простым кипячением в воде в продолжение нескольких минут. В большинстве случаев для большей успешности стерилизации в кипящей воде к последней прибавляют 1—2% соды.

Здесь мы имеем уже переход к химическому обеззараживанию.

Химическое обеззараживание состоит в уничтожении микроорганизмов химическими ядами. Этот способ применяется в лабораториях при работах с чистыми культурами в тех случаях, когда необходимо избежать занесения в среду микроорганизмов извне вместе с инструментами или естественными плотными субстратами, стерилизация которых при помощи высоких температур вызвала бы изменение в их физическом или химическом состоянии. С этой целью употребляют сулему в растворах один на 1 000 — 500 (0,1—0,2%), карболовую кислоту (3—5%), формалин, хлорную известь (хлорную воду), хлороформ, иодоформ, бром (бромовую воду) и т. д. Губительное действие этих ядов основывается на воздействии их на протоплазму клетки, вызывая разрушение ее структуры или парализуя ее деятельность (деятель-

ность ферментов). Так, например, большинство солей тяжелых металлов, проникая внутрь клетки, свертывают белки, образуя нерастворимые соединения альбуминов; формалин (выше известной концентрации) задерживает и понижает действие диастазы, замедляет дыхание и вообще понижает действие каталазы (В. Этвуд — W. M. Atwood). Действие солей будет тем более ядовито, чем большей диссоциацией соль обладает. С другой стороны — ядовитое действие того или иного химического вещества или соединения зависит от природы организма; так, свободный кислород, столь необходимый для жизни элемент, является ядом для анаэробных бактерий; нитрифицирующие бактерии не могут переносить даже в слабых концентрациях (0,5%—1%) растворы сахара и пептона, обладающих для прочих микроорганизмов высоко питательными качествами.

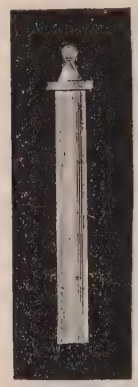


Рис. 14. Свеча Пастера-Шамберлена.

При пользовании для стерилизации ядовитыми растворами следует помнить, что неосторожное внесение их в питательную среду даже в небольших дозах вместе с инструментами или с субстратом может пагубно отразиться на развитии изучаемого микроорганизма, почему как инструменты, так и субстрат после стерилизации следует тщательно повторно промывать в стерильной воде, чтобы удалить даже малейшие следы стерилизующей жидкости. Обыкновенно заранее заготовляют в химических стаканах соответствующей стерилизуемому объекту величины стерильную воду. Воду стерилизуют в автоклаве прямо в стаканах, плотно закрыв их фильтровальной бумагой. После стерилизации воду охлаждают и хранят до момента употребления. Стерилизацию растворами проводят так: большими, простерилизованными в пламени, щипцами берут предназначенный для стерилизации клубень картофеля, корнеплод, корень, побег и т. д. и погружают его в дезинфицирующий раствор, наблюдая, чтобы жидкость омывала всю поверхность объекта и чтобы где-нибудь в углублении не задержался воздух. Последний удаляют при помощи препарировальной иглы. Если объект будет сильно загрязнен, его предварительно тщательно моют в воде щеткой. Одной-двух минут бывает вполне достаточно для стерилизации, и тогда объект теми же щипцами переносят через ряд стаканов со стерильной водой, старательно обмывая его в каждом стакане. Обеспложенный таким

образом клубень быстро разрезают стерильным ножом или буравом и немедленно переносят в предварительно простерилизованную посуду — пробирки, чашки Петри. Прежде чем пользоваться приготовленной таким путем средой, не бесполезно бывает выдержать

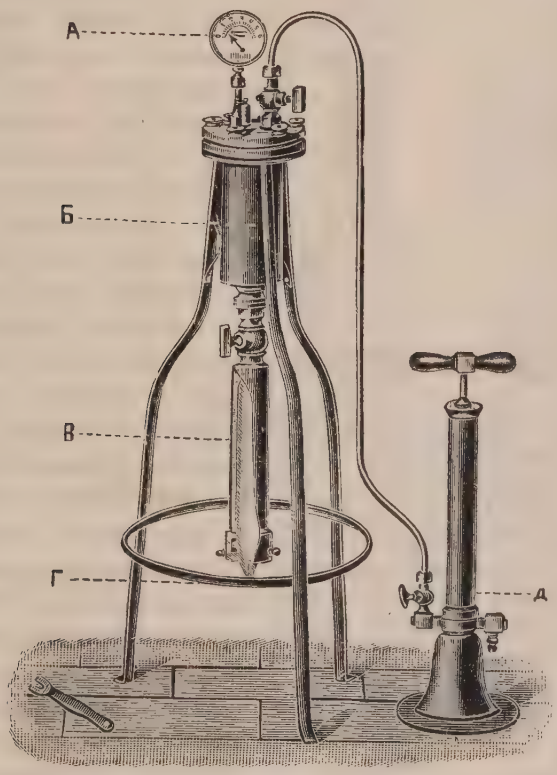


Рис. 15. Прибор Шамберлена для фильтрации жидкостей через пористые фильтры (свечи). Действует положительным давлением. Фильтруемая жидкость наливается в герметически закрывающийся цилиндр (*Б*). Цилиндр соединяется с нагнетательным насосом (*Д*) и со свечей (*В*). Под давлением жидкость проходит через свечу и стекает в подставленную колбу через *Г*. Манометр (*А*) указывает на давление. Аппарат, в который вложена свеча, должен быть каждый раз обеспложен.

ее в течение нескольких дней в термостате, чтобы убедиться, что среда не загрязнилась во время работы.

В тех случаях, когда необходимо бывает обеспложить легко разлагающуюся под влиянием температуры жидкость и опасаются подвергать такую нагреванию, прибегают к механическому отделению микроорганизмов и их зародышей путем фильтрации жидкости через мелкопористые перегородки. Для этой цели служат

так называемые свечи Пастера-Шамберлена, Беркфельд и др. (рис. 14). Чтобы заставить жидкость пройти через такой фильтр, пользуются разницей давления по обе стороны его стенок, что достигают путем нагнетания или выкачивания воздуха из полости свечи. Фильтрование через свечи можно производить или снаружи внутрь или изнутри наружу (рис. 15, 16, 17, 18 и 19).

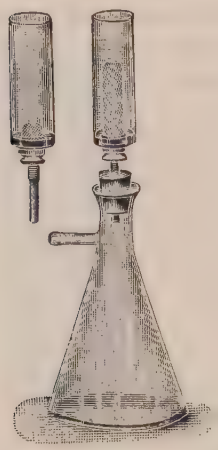


Рис. 16. Аппарат для фильтрования малых количеств жидкости. Фильтруемая жидкость наливается в цилиндр, внутри которого помещается свеча открытым концом вниз. Жидкость, пройдя через поры свечи, поступает в колбу, из которой воздух выкачивается при помощи небольшого водного насоса (рис. 18). Весь аппарат предварительно стерилизуется в автоклаве.

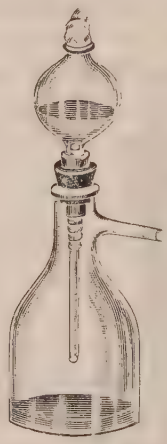


Рис. 17. Другой аппарат для фильтрования (Китазато). Здесь жидкость поступает из верхнего баллона внутрь свечи; затем, просачиваясь через ее стенки, попадает в колбу, воздух из которой также выкачивается. Перед фильтрованием весь аппарат стерилизуется в автоклаве.

Перед употреблением фильтры стерилизуются кипячением в воде или нагреванием в автоклаве или сухим жаром. Во избежание растрескивания фильтров температуру поднимают постепенно. По той же причине не рекомендуют стерилизовать фильтры, обжигая их непосредственно на огне.

Бывшие в употреблении свечи сначала промывают водой, пропуская ее через стенки фильтра в направлении, обратном тому, в каком происходило фильтрование; благодаря этому удаляются приставшие к поверхности свечи микроорганизмы и прочие, находившиеся в фильтровавшейся ранее жидкости во взвешенном состоянии, частицы.

Неудобство этого метода состоит в том, что на-ряду с микроорганизмами отфильтровываются также и питательные частицы, находящиеся в среде во взвешенном состоянии; кроме того через поры свечи часто проходят мельчайшие микроорганизмы, незаметные даже под микроскопом.

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ.

При искусственном воспитывании организмов подбор соответствующей питательной среды является первостепенной задачей.

Для микроорганизмов бывает недостаточно того, чтобы среда содержала все необходимые для их питания элементы — углерод,

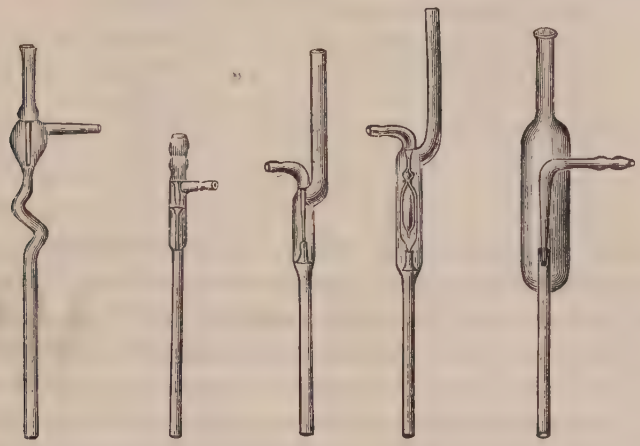


Рис. 18. Водоструйные насосы, которыми можно пользоваться для выкачивания воздуха из приемников при фильтрации жидкостей через свечу (см. рис. 16 и 17) Верхним концом насос соединяется с краном водопровода, а боковой трубкой. (отводом) соединяется с боковыми трубками приемников. Когда кран бывает открыт, вытекающая вода увлекает с собой воздух из приемников.

азот, водород, кислород, серу, фосфор, калий, магний и железо необходимо, чтобы они были доставлены в той форме, в какой организм способен их усваивать. Выше упоминалось, что как в отношении углерода, так и азота разные организмы предпочитают разные соединения этих элементов, что, конечно, находит объяснение в том подборе ферментов, которым обладает тот или иной организм. Так, оказывается, что плесени более чувствительны к двухромокислому калию, кремнефтористому натрию, хлористому и сернокислому цинку. Кремнефтористый натр уже в количестве 0,04% останавливает рост плесеней, а некоторые вредители хорошо развиваются даже при 0,08% и 0,1%. Точно также сернокислый цинк и хлористый цинк при 0,2% приостанавливают развитие плесени, а специфические грибки *Ceratostomella, Verticillium* и др. нормально развиваются при содержании этих солей цинка даже в количестве 0,4% и до 1%.

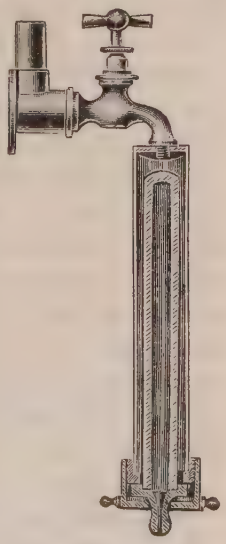


Рис. 19. Фильтр Шамберлена, приспособленный к водопроводному крану, для получения стерильной воды.

Пользуясь этими, установленными И. А. Мокриновым, особенностями, была выработана следующая среда:

Фосфорнокислого аммония	0,2%
Фосфорнокислого калия	0,1%
Сернокислого цинка	0,4—0,6%
Сернокислого магния	0,05%
Мальцэкстракта	2,5%
Пептона	1,0%
Агар-агара	1,0%

на которой названный автор быстро получал чистые культуры подавляющего числа грибков — вредителей древесины, так как рост плесеней задерживался, а специфический грибок быстро развивался. Специализация грибков в отношении питательных веществ идет так далеко, что для них имеет значение даже стереоизомерия. Известно, что малеиновая кислота для некоторых организмов является подходящим источником углерода, фумаровая же, имеющая тот же химический состав, но отличающаяся строением ее молекулы, не только не усваивается ими, но является для них почти ядом. То же самое наблюдается в отношении азот содержащих соединений. С другой стороны, выбор субстрата и его формы зависит от тех задач, которые преследует исследователь.

Следует отметить, что естественные субстраты являются более благоприятной для развития микроорганизмов средой, чем искусственные. Объяснение этому видят в том, что естественный питательный субстрат представляет собой сложный комплекс разнообразных органических веществ, как углеродистых, так и азотистых, и организм скорее находит здесь те вещества, которые соответствуют его потребностям, а, с другой стороны, вредное влияние на организм некоторых входящих в состав субстрата веществ, а также продуктов обмена жизнедеятельности организма нейтрализуется наличием в среде других. Кроме естественных субстратов, которые употребляют для искусственных культур или в их естественном плотном состоянии или в форме вытяжек и настоев, пользуются также искусственными составами в форме растворов или в искусственных плотных формах.

Из естественных субстратов употребляются фрукты, овощи, корни, побеги, листья, особенно тех растений, которые богаты питательными веществами, печеный хлеб, навоз и т. д.

Фрукты употребляются как свежие, так и сушеные, в их естественном виде или в форме вытяжек. Наиболее ekome-нр

дуют употребление слив. Сливы берут так называемые врачебные, хорошо развившиеся, с большим содержанием сахара и слабокислые. Для приготовления среды из слив последние очищают от кожицы и оставляют на 12 часов в холодной воде. Если употребляют сухие сливы, их предварительно размачивают (дают им разбухнуть в воде), затем измельчают и в этом виде оставляют в холодной воде. По истечении 12 часов жидкость фильтруют и после стерилизации употребляют. При этом способе вытяжка получается светлая и прозрачная. В других случаях вытяжку получают, кипятя сливы в воде. Тогда получается настой буротемного цвета. Следует помнить, что при пользовании естественными субстратами, особенно фруктами, следует избегать продолжительного кипячения субстрата и нагревания его до температуры выше 100° С, так как в этих случаях происходит изменение в их химическом составе. Лучше всего для стерилизации их прибегать к помощи коховского кипятильника, простерилизовав предварительно посуду при более высокой температуре в автоклаве или в пастеровской печи. Но отвары слив немного кислы, хотя это обстоятельство в большинстве случаев при культурах грибов имеет положительное значение. При пользовании этим отваром для организмов, не переносящих кислую среду, его предварительно нейтрализуют прибавлением соответствующего количества двууглекислого натра. Реакция среды проверяется лакмусовой бумажкой.

Подобные же вытяжки приготовляют из других плодов и иных частей растений, как-то: овса, картофеля, пшеницы, риса и т. д.

Вытяжки или отвары из естественных субстратов употребляют как самодовлеющую питательную среду или же их прибавляют к другим питательным субстратам. Употребляют их или в форме растворов или искусственных плотных сред, прибавляя к ним некоторое количество желатины, агар-агара или смеси этих двух или, наконец, кремневого студня.

Желатина представляет собою альбуминоидное вещество, искусственно получаемое из так называемого коллагена, являющегося составной частью соединительной ткани, а также костей, хрящей и т. п. Получается желатина непосредственно из органов, богатых коллагеном, кипячением в воде. Почти чистая желатина получается кипячением с водой рыбьего пузыря. Менее чистая желатина добывается из костей. Покупаемая желатина всегда содержит немного белка, что легко установить при помощи миллоновой реакции. Размачиванием желатины в холодной воде и

последующим выщелачиванием холодным раствором поваренной соли этот белок из желатины возможно удалить.

Желатина представляет собой бело-желтоватое, стекловидное и бьющееся тело слабокислой реакции. В холодной воде она не распускается, но может, разбухая, поглотить воды до 40 частей своего веса. В теплой воде или при кипячении она растворяется и при охлаждении дает студень. Достаточно 1 части желатины на 100 частей воды, чтобы получить такой студень. Но при продолжительном кипячении или при нагревании даже в продолжение нескольких минут в автоклаве при 140° С желатина теряет свою способность давать студень, почему стерилизовать желатинизованную среду лучше всего в текучем пару фракционной стерилизацией или в автоклаве при 1,5 атмосферах, т.-е. при температуре в 110° С в течение 15 минут. Для желатинизирования питательных сред к ним прибавляют обыкновенно 10% желатины. Точка плавления желатинизованной среды изменяется в зависимости от содержания желатины:

5%	„желатина“	плавится	при	22° С	
10 „	„	„	„	24 „	
15 „	„	„	„	25 „	
25 „	„	„	„	26,5 „	и т. д.

Желатинизируют среду следующим приемом. К питательному раствору прибавляют соответствующее количество желатины и, подогревая на водяной бане, распускают. Полученный раствор фильтруют горячим (для этого употребляются специальные воронки) (рис. 20) и разливают по пробиркам и колбам, наблюдая, чтобы не оставить раствора на том месте горлышка, куда вкладывается пробка. В противном случае пробка приклеится к стеклу, что будет мешать работе, а с другой стороны, здесь легче всего будет загрязнить среду. Для разлива сред употребляются специальные воронки Трескова, снабженные сбоку измерительным цилиндром, что позволяет вливать в пробирки одинаковые количества жидкости (рис. 21).

Можно также пользоваться обыкновенной воронкой, закрепленной в штативе, на конец которой надевается небольшой кусок резиновой трубки, снабженной снизу небольшой стеклянной трубкой, с оттянутым концом. Пружинный зажим (Мора) позволяет по желанию в любой момент остановить струю жидкости. Разливать желатинизованную среду следует горячей.

К числу недостатков желатины следует отнести ее слабую устойчивость против высоких температур, а главное то, что она сама по себе обладает питательными качествами, что, конечно, препятствует пользоваться этим студнем при работах по физиологии питания грибка.

Рис. 20. Воронки для горячего фильтрования.

С неменьшим успехом вместо желатины пользуются агар-агаром, которого прибавляют к растворам от 1% до $1\frac{1}{2}\%$ и даже до 2%.

Агар-агар — это студень растительного происхождения. Его получают из морских водорослей, обитающих по восточно-азиатскому побережью. Он представляет собой смесь углеводов (полисахаридов) с небольшим количеством азотистых веществ. Реакция слабо щелочная. Агаровые среды плавятся при t^0 около 100^0 С и застывают при 40^0. Для приготовления агаризованной среды вносят в большую колбу с питательным раствором необходимое количество агар-агара и помещают в автоклав. Здесь под давлением 1,5 атмосфер в течение 15 минут агар-агар распускается, и его фильтруют немедленно через вату в горячей воронке, или же в автоклаве при открытом кране, или в коховском аппарате. Профильтрованную среду, закрыв колбу ватной пробкой, снова стерилизуют и хранят в этом виде,

Рис. 21. Разливательная воронка Трескова с измерительным цилиндром сбоку.

или же предварительно разливают по пробиркам и колбам и только теперь стерилизуют.

Растворять агар-агар можно также на водяной бане (рис. 22), но здесь это происходит значительно медленнее.

К числу недостатков агаризованных сред следует отнести: отдачу воды, которая колеблется в зависимости от содержания агар-агара, плохое схватывание стекла, трудность фильтрования, неполную прозрачность и также наличие некоторого количества экстрагируемых органических веществ.

Для увеличения схватывания стекла к агаризованным средам иногда прибавляют некоторое количество желатины (до 2%) или гумми-арабика (до 1%).

Для получения чистого агар-агара Бейеринк рекомендует следующий прием: Приготовляют 3% раствор агара. После филь-

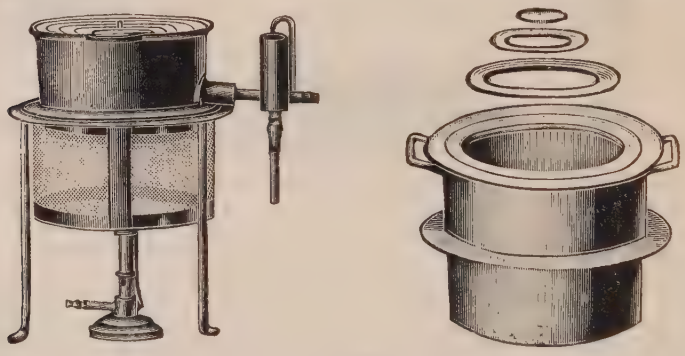


Рис. 22. Водяная баня.

трования его разливают нетолстым слоем по кристаллизационным чашкам. Когда агар застынет, его разрезают на куски, заливают водой (дестиллированной) и ставят в термостат. Растворимые органические вещества экстрагируют и загнивают, вследствие чего вода мутнеет. Через каждые 1—2 дня помутневшую воду заменяют чистой. Недели через 2—3 получают почти чистый агар и тогда его употребляют. Другие авторы рекомендуют расщипанный и разрезанный на небольшие куски спрессованный агар залить водой и оставить его гнить в течение 10—14 дней. Затем воду сливают и агар тщательно промывают в дестиллированной воде, сменяя последнюю несколько раз.

Для увеличения растворимости агар-агара Масе (Mazé) рекомендует подвергать агар-агар предварительной обработке. Для этого 10 *г* агар-агара оставляют на 24 часа в 500 *куб. см* воды,

к которой добавляют 6 *куб. см* соляной кислоты. После тщательного промывания агар-агар снова заливают таким же количеством воды, добавляя туда 6 *куб. см* аммиака, и оставляют так тоже на 24 часа. Теперь агар-агар можно высушить и хранить или употреблять немедленно.

Чтобы совершенно избежать наличия в среде органических веществ, желатину и агар-агар заменяют кремневым студнем, совершенно индифферентным в питательном отношении. Его неудобства состоят в том, что питательные вещества приходится вводить в него путем диффузии. По Бейеринку, кремневый студень приготовляется следующим способом. Смешивают равные части жидкого стекла (возможно чистого кремневокислого калия или натрия с удельным весом 1,05—1,08) и соляной кислоты (удельного веса 1,1). Смесь разливают по чашкам Петри и оставляют на 1 ночь. К утру смесь застывает. Чтобы удалить свободную кислоту, чашки Петри ставят рядами в стеклянную ванну или аквариум, а последние ставят в несколько наклонном положении под водопровод и пускают воду. Ввиду того, что в водопроводной воде всегда имеются скопления железных бактерий, воду профильтровывают через обезжиренную вату. Студень промывают так долго, пока синяя лакмусовая бумажка, приложенная к ней, не перестанет краснеть. Тогда водопроводную воду сливают и заменяют на 24 часа дестиллированной [1]).

После промывания чашки Петри опрокидывают над фильтровальной бумагой для того, чтобы дать стечь воде. Затем чашки ставят в нормальное положение и вливают столько заготовленного питательного раствора, чтобы покрыть им всю пластинку студня, и оставляют в таком виде. В течение нескольких часов жидкость успевает диффундировать в студень. Излишку жидкости дают стечь из чашки, и среда готова к употреблению.

В тех случаях, когда для заключительного промывания студня употребляют не только дестиллированную, но и стерилизованную воду и, равным образом, питательный раствор подвергают предварительной стерилизации, можно будет избежать последующей стерилизации субстрата. Хотя из предосторожности необходимо бывает подвергнуть его предварительному испытанию; для этого несколько чашек в течение нескольких дней выдерживают в термостате, наблюдая, не появятся ли на субстрате микроорганизмы.

[1]) Виноградский предлагает иной, более сложный способ приготовления кремневого студня.

Картофель, а также морковь, сахарная свекла и др. употребляются в качестве питательного субстрата в разных формах. Перед употреблением клубень или корнеплод тщательно очищают щеткой под сильной струей воды, чтобы удалить приставшие частицы земли, и удаляют глазки и все больные места. Иногда этот субстрат употребляют в твердой форме. Для этого в некоторых случаях клубень картофеля подвергают химической стерилизации, т.-е дезинфицируют его поверхность и затем стерильными инструментами, принимая все меры предосторожности (асептически), вырезают из него или цилиндрики и кладут их в стерильные пробирки, или пластинки и помещают их также в предварительно простерилизованные чашки Петри и пользуются ими для посева. Вне всякого сомнения бывает полезно, а порой даже необходимо, проверить стерильность приготовленного таким образом субстрата, поместив несколько незасеянных пробирок или чашек Петри на несколько дней в термостат. В других случаях, когда цель исследования позволяет, то клубень подвергают стерилизации в автоклаве и только затем асептически (стерильно) приготовляют из него пластинки или цилиндры. Порой цилиндры и пластинки подготовляют без предварительной стерилизации, почему их приходится подвергать последующей стерилизации вместе с посудой в автоклаве в течение 15—20 минут при 120°.

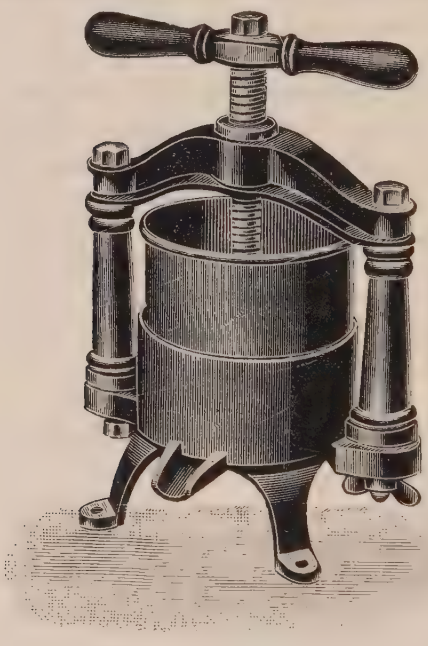


Рис. 23. Пресс для получения сока из растительных или животных тканей.

Картофель употребляют также в форме картофельной кашицы, картофельного сока, картофельной воды, крахмала и т. д.

В первом случае очищенный от кожуры картофель растирают, получившуюся массу помещают лучше всего в эрленмейеровскую колбу или чашки Петри (толщиною до 1 *см*), стерилизуют и засевают грибком.

Для получения картофельной воды определенную навеску очищенного картофеля (например 500 *г*) растирают на терке и оставляют на ночь в холодном месте в таком же количестве воды. На утро отстоявшуюся воду сливают, добавляют еще такое же количество воды, кипятят в течение одного часа на водяной бане и фильтруют.

Картофельный сок получают, прессуя растертый сырой картофель (рис. 23). Стекающий из-под пресса сок оставляют некоторое время в состоянии покоя, затем отстоявшуюся жидкость сливают и фильтруют.

Как картофельная вода, так и картофельный сок употребляются как составная часть какой-либо питательной среды, почему после получения их или стерилизуют и хранят в запасе, или тотчас же смешивают с другими составными частями и стерилизуют вместе с ними после разлива среды по посуде.

Так, к картофельной воде добавляют до 0,4% глицерина.

Картофельный сок употребляют, например, в следующей комбинации:

1 000 *куб. см*	картофельного соку
110 *г*	глюкозы
10 „	лимонной кислоты
15 „	агар-агара

Ввиду того, что кислые среды не переносят стерилизации при высоких температурах, лимонную кислоту рекомендуют осторожно вливать в уже разлитую и выстерилизованную среду.

Раствор крахмала употребляют преимущественно после его предварительной сахаризации при помощи солода или в смеси с другими соединениями.

Например вместе с:

0,2 %	K_2HPO_4
0,2 „	$(NH_4)_2HPO_4$
0,05 „	$MgSO_4$
0,2 „	NH_4MgPO_4
0,5 „	крахмала

Кроме картофельной муки с успехом применяют также рисовую муку или салеп (мука из корней различных орхидей). Хотя все эти крахмальные продукты употребляются в качестве ингредиентов какой-либо более сложной среды. Так, салеп оказывается очень пригодным для культуры грибков в следующей смеси:

30	г	агар-агара
9	„	порошка салена
0,2	„	KH_2PO_4
0,01	„	$MgSO_4$
0,01	„	NH_4NO_3
0,01	„	$(NH_4)_2SO_4$
0,02	„	$FeSO_4$
1	„	виноградного сахару
0,2	„	виннокаменной кислоты
		2 литра воды.

Все это растворяют на водяной бане и фильтруют в автоклаве.

В некоторых случаях, когда грибки требуют наличия значительного количества белков, с успехом пользуются бобовым отваром. 100 г бобов (или гороху) осторожно кипятят некоторое время в 1 литре воды (лучше на водяной бане), обращая внимание, чтобы зерна не растрескивались и краумал не оклейстерился. Жидкость фильтруют еще горячей. Ввиду того, что такая среда довольно бедна углеродом, полезно бывает добавлять к бобам (а также и гороху) во время их варки зерен овса или пшеницы. Добавляют их от 3 до 5% по весу в отношении бобов или гороху.

Подобным же образом можно приготовить отвар и из других зерен — гороха, пшеницы, овса и т. д.[1]) (см. также ниже). Для пользования этими отварами их агаризуют или желатинизуют или же добавляют их к минеральным (синтетическим) средам.

Для культуры грибов оказался очень пригодным хлеб. Употребляется белый хлеб не очень черный, но грубый, хорошо пропеченный и рыхлый. Некоторые исследователи предпочитают брать сильно пропеченный хлеб. Употребляются также и сухари. Как среда хлеб используется в виде кашицы, но лучше, если хлеб сохранит свою естественную рыхлую структуру; в этом случае гриб более преуспевает в своем развитии. Ввиду того, что при стерилизации с водой хлеб часто теряет свою рыхлую структуру, лучше всего хлеб стерилизовать без воды, затем к стерильному хлебу подлить соответствующее количество стерилизованной воды. Воды должно быть немного, достаточно лишь для того, чтобы увлажнить хлеб. Питательные качества хлеба сильно повышаются, если к нему добавить вытяжки из слив или конского навоза.

Субстраты, богатые белками, с успехом заменяются, а при

[1]) На 1 объем пшеницы берут полтора объема воды, на 1 объем рису берут 3 объема воды.

культуре грибов являются даже выше многих из них по своей питательности — пивное сусло или солодовый экстракт, которые кроме белков богаты также и сахаром. Проще всего пользоваться пивным суслом с пивоваренных заводов, но приготовление его лабораторным способом также не представляет затруднений. Пивное сусло употребляется в форме крепкого или слабого растворов. Для приготовления первого берут 250 *г* солодовой ячменной муки и 250 *г* ржаной на 500 *куб. см* водопроводной воды, а для слабого—100—200 *г* солодовой ячменной муки на 1 литр воды. Приготовляется сусло следующим образом. Соответствующее количество воды подогревают до 48—50° С и понемногу подсыпают, беспрерывно помешивая, чтобы помешать образованию комков, отвешенную муку. В течение первых 30 минут температуру поддерживают — 48 — 50°, в течение следующих 30 минут температуру поднимают до 55—56° С и поддерживают на этой высоте до полной сахаризации крахмала. Необходимо тщательно следить, чтобы t° не доходила до 60°, так как при этой температуре фермент (амилаза) будет убит. Окончание сахаризации устанавливают при помощи реакции с иодом. Полученную жидкость оставляют в покое, чтобы она отстоялась, затем декантируют, процеживают через ткань и разливают по заранее простерилизованным колбам или пробиркам. Стерилизуют сусло или в автоклаве при 110° в течение 15—20 минут или лучше в коховском аппарате, повторяя стерилизацию в течение шести дней. Первые три дня стерилизуют по полчаса, сохраняя сусло в остальное время в холодном месте. На четвертый день сусло выдерживают в течение нескольких часов в термостате при 35—40° С, а затем подвергают обычной $^1/_2$-часовой стерилизации. В течение всего пятого дня жидкость выдерживают в термостате при 25—30° С. Последняя стерилизация производится на шестой день в течение одного часа.

К числу очень употребительных субстратов относится также навоз. Чаще всего употребляется конский навоз, но хорош также навоз и от кроликов. Хотя следует иметь в виду, что происхождение навоза от того или другого животного оказывает мало влияния на его питательные качества; последние зависят скорее от пищи, скармливаемой животному. По заключению Брефельда, наиболее пригодным является конский навоз от лошадей, получающих овес. Навоз должен быть свежий и при пользовании им в естественной форме желательно сохранить естественное строение комков навоза, так как при его рыхлости грибок легче проникает

внутрь субстрата и полнее использует питательные вещества. Надежнее всего стерилизацию навоза производить в автоклаве. Очень большими питательными качествами обладают также и вытяжки из навоза. С этой целью из навоза, подливая в него воду, приготовляют густую кашицу [1]) и оставляют ее на один час в коховском кипятильнике при 80—90° С. По охлаждении жидкость фильтруют. Затем вытяжку разливают по эрленмейеровским колбочкам и стерилизуют или в автоклаве или в коховском кипятильнике (фракционной стерилизацией). Для полного обеспложивания последнюю стерилизацию необходимо повторять 3—5 раз.

Как вытяжки из конского навоза, слив, так и пивное сусло и др. можно заготовлять впрок, выпаривая их до густоты экстракта. В таком виде они могут сохраняться неограниченно долго. При надобности берут соответствующее количество, разбавляют водой и стерилизуют.

Отвар навоза употребляется или в соединении с другими субстратами или сам по себе, иногда после его агаризации и желатинизации.

Наконец Клебан рекомендует применять асептически полученные соки растений или животных или вытяжки из них (в последнем случае автор пользовался сушеной треской; вытяжка из нее, полученная в холодной воде, предварительно фильтровалась через пористую обожженную глину). Эти соки или вытяжки смешивают с агаром после его стерилизации перед самым его застыванием в чашках Петри.

Содержание питательных веществ в упомянутых выше средах очень различно. В одних преобладают азотистые вещества, в других — безазотистые. Выбор тех или других зависит от особенностей питания того или иного грибка. Но, как уже указывалось выше, естественные среды всегда являются более благоприятными для развития микроорганизмов вследствие богатства соединений, какие в составе этих естественных субстратов имеются. Это богатство соединений, благоприятное для получения более развитых культур, в то же время является большим препятствием при изучении физиологии питания и обмена жизнедеятельности изучаемого организма вследствие неопределенности состава среды (отсюда и их название: среды неопределенного состава). Выяснить эту за-

---

[1]) Приблизительно берут 1 стакан навозу на 1 литр воды. Вытяжку можно получить простым кипячением. Полученную вытяжку очищают белком.

дачу возможно лишь при условии точного учета использованных организмом веществ и результатов этого использования. Поэтому в подобных случаях приходится прибегать к помощи искусственно подобранных определенных сред, учитывая потребность организма в основных химических элементах и его специализацию в отношении состава субстрата. Насколько паразит самостоятелен в выборе своей пищи и независим в своих жизненных отправлениях, могут свидетельствовать результаты анализов золы омелы (Viscum) и питающих ее растений, выполненных Грандо (H. Grandeau) и Бутоном (A. Bouton).

	Всего золы	P_2O_5	MgO	Na_2O	H_2O
Populus . . .	3,097	4,77	8,20	2,68	6,56
Viscum на Populus . . .	3,461	26,29	9,21	2,04	16,09
Robinia . . .	2,063	3,45	2,51	0,47	2,35
Viscum на Robinia . . .	2,132	12,02	6,72	2,58	15,90
Picea . . .	1,609	7,89	7,12	2,63	8,40
Viscum на Picea	3,139	13,11	12,19	следы	30,79

Касаясь грибков, можно отметить среди них две группы, различающиеся между собою в отношении субстрата. Одни — питающиеся за счет животного организма и его остатков — предпочитают среды, богатые органическим азотом с нейтральной или слабощелочной средой, другие — питающиеся за счет растений и растительных остатков — лучше развиваются в слабо кислых средах, богатых углеводами. Тем не менее каждая среда должна содержать все потребные для организма элементы и в соответствующих отношениях. Понижение содержания в растворе того или иного элемента неминуемо скажется на развитии грибка (закон minimum'a). С другой стороны, и изобилие какого-либо элемента оказывает вредное влияние на развитие грибка, изменяя осмотическое давление среды.

Наконец при культуре грибков следует обратить соответствующее внимание на реакцию среды. Это требование касается в равной мере как естественных, так и искусственных сред.

Как правило в зависимости от образа питания одни грибки предпочитают слабо щелочную, другие — слабо кислую среду, при чем некоторые из них бывают очень чувствительны к изменению среды: так, Сапролегниевые не переносят даже 0,005% винно-каменной кислоты, другие (плесени), нормально развивающиеся на слабо кислых средах, способны развиваться также и в слабо щелочной среде. Наконец некоторые грибки поражают своей выносливостью против кислот, вынося лимонную кислоту до 10—12%, азотную — до 30% и некоторые даже свободные кислоты — лимонную, уксусную, виннокаменную.

Реакция среды, раз данная, не остается неизменной в течение развития грибка. Последний, выделяя в среду продукты своей жизнедеятельности, изменяет ее в том или ином направлении в зависимости от наличия тех или иных источников питания и совершающихся в них химических процессов. Так, при питании органическим азотом небелкового характера грибки отщепляют от них в первую очередь аммиак или азотную кислоту. Выделенный аммиак тотчас же дает с различными органическими кислотами, продуктом жизнедеятельности грибка, соли. Таким образом при усвоении аммиака в субстрате должна накапливаться свободная кислота, входившая в состав аммиачной соли, и реакция (кислая) среды должна повышаться и неблагоприятно отзываться на дальнейшем развитии организма. Однако накопление аммиака в кислых средах будет происходить лишь при недостатке сахара. При наличии последнего наблюдается энергичный рост гриба с значительным образованием белков, на построение которых и тратится аммиак; так что при постоянном наличии избытка сахара грибы (плесени) не образуют даже следов аммиака, почему в этих случаях усвоение азота из органического соединения не вызывает изменения реакции среды. Возможно образование кислот также и за счет сахаров. Отмечают способность грибов накоплять при недостатке в субстрате азота лимонную кислоту за счет углеводов.

На усиление реакции среды могут влиять также различные примеси, попадающие, с одной стороны, вместе с водой, а с другой — вместе со стеклом.

В случае недостаточно кислой реакции к среде прибавляется некоторое небольшое количество свободной кислоты. Так, уже выше упоминалось, что при составлении среды с картофельным соком (картофель — слабое основание) к среде добавляют некоторое количество лимонной кислоты.

Как уже указывалось выше, кислые среды очень чувствительны к высоким температурам. Это надо иметь в виду, когда прибегают к подкислению среды. Рекомендуют стерилизовать среду без кислоты, а добавляют ее в соответствующих количествах в форме раствора к уже простерилизованным средам. Если работа ведется с плотными средами, то кислоту подливают, когда среда уже значительно остыла, но раньше чем она примет плотную консистенцию.

Для определения кислотности и щелочности среды обыкновенно пользовались, да и ныне пользуются титрованием раствора щелочами или кислотами, пользуясь для установления момента нейтрализации лакмусом или иными индикаторами. Между тем установлено, что этот метод не дает истинного понятия об активной реакции среды, которая определяется соотношением между водородными ($H+$) и гидроксильными ($OH-$) ионами, из которых первые ($H+$) определяют кислотность, а вторые ($OH-$) щелочность реакции. Нейтральной средой будет та, в которой концентрация водородных ионов будет равна концентрации гидроксильных ионов; в случае же неравенства среда будет щелочная или кислая, в зависимости от того, какие ионы ($H+$ или $OH-$) будут иметься в избытке, и сила реакции будет зависеть от количественного избытка этих ионов. Поэтому в настоящее время при точных экспериментальных физиологических работах определение реакции среды ведут прямым учетом концентрации водородных или гидроксильных ионов в растворе, что позволяет учесть не только качественную, но и количественную сторону реакции.

Вода, в которой происходят процессы расщепления, замещения и другие имеющие высокое для физиологии организма значение реакции, является диссоциирующим, нейтральной реакции телом. Электролиз воды идет по следующей схеме: $H_2O \rightleftarrows H^+ + OH^-$, и нейтрализация обусловливается не только тем, что H^+ и OH^- соединяются в недиссоциированные молекулы воды, но главным образом благодаря наличию равенства концентраций водородных и гидроксильных ионов, так как вода отчасти сама всегда ионизирована. Однако уже этой незначительной диссоциации бывает достаточно, чтобы вызвать гидролиз солей слабых кислот, в результате чего произойдет изменение соотношения между H^+ и OH^-, в данном случае будет наблюдаться накопление некоторого избытка гидроксильных ионов, и реакция станет щелочной. Чтобы воспрепятствовать изменению соотношения (величины константы),

будет необходимо уменьшить концентрацию OH^-, в результате чего произойдет соответствующее понижение щелочности.

Поэтому при составлении среды и выборе питательных солей следует учитывать, что соли сильных оснований со слабыми кислотами вследствие разности диссоциации кислоты и оснований при растворении дают щелочную реакцию, и, наоборот, соли слабых оснований с сильными кислотами вызывают кислую реакцию [1]).

Учитывая сказанное и пользуясь имеющимися таблицами, можно подобрать такое соотношение кислот и их солей, при котором концентрация водородных ионов будет равна заранее намеченной величине, что имеет значение не только для приготовления искусственной среды, но, по заключению Гендерсона (Henderson), также и для регулирования реакции сока организма при его нормальной деятельности.

Чтобы воспрепятствовать сильному изменению реакции среды под влиянием жизнедеятельности организма (организмы не переносят значительных колебаний реакции среды), в некоторых случаях необходимо пользоваться так наз. амфотерными или буферными электролитами, которые отщепляют и гидроксильный и водородный ион от одной и той же молекулы, при чем в кислой среде отщепление H^+ будет подавлено, и вещество будет действовать как основание, а в щелочной — наоборот [2]).

Такими буферными веществами будут некоторые гидраты металлов, а также, что особенно важно, аминокислоты, пуриновые основания и белки.

Ввиду важности точного учета реакции среды для правильного понимания развития исследуемого организма вообще и паразитирующих организмов в частности, были выработаны методы, позволяющие довольно быстро и точно установить таковую. Наиболее простым и достаточно точным является индикаторный метод, при котором определение водородных и гидроксильных ионов ведется по шкале индикаторов. Существует несколько таких шкал — Каница (A. Kanitz), Михаэлиса (Michaelis) и др. В некоторых случаях возможно ограничиться простым установлением

[1]) Сильными кислотами и щелочами называют такие, которые способны сильно ионизировать, с образованием H^+ и OH^-, а слабыми — те, которые при той же молекулярной концентрации диссоциируют слабо.

[2]) Это указание имеет лишь относительное значение, так как на самом деле в каждом буферном электролите одна функция — основная или кислотная—будет преобладать.

Шкала индикаторов по Каницу.

Растворы индикаторов должны быть 0,1%. Одну каплю такого раствора индикатора прибавляют к 10 *см*³ испытуемой жидкости и наблюдают окраску в проходящем свете.

Промежуточные концентрации индикаторов определяются по шкале эталонов.

Перемена окраски каждого индикатора, напечатанная жирным шрифтом, соответствует обозначенной сбоку концентрации водородных и гидроксильных ионов.

	Мовеин	Конго	Ализарин-сульфокислый натр	Розоловая кислота	Фенолфталеин	Нафтолбензоин	Тропеолин О	Тринитробензол	Бензопурпурин	Сафранин
pH = 2n . . .	**желтый**	синий	желто-зеленый	желтый	бесцветный	коричневато-желтый	желтый	бесцветный	синий	синий
pH = n . . .	**зеленый**	синий	желто-зеленый	желтый	бесцветный	коричневато-желтый	желтый	бесцветный	сине-фиол.	лиловый
pH = n.10^{-1} .	**зелен.-синий**	синий	желто-зеленый	желтый	бесцветный	коричневато-желтый	желтый	бесцветный	фиолетовый	розовый
pH = n.10^{-2} .	**синий**	синий	желто-зеленый	желтый	бесцветный	коричневато-желтый	желтый	бесцветный	фиолетовый	розовый-красный
pH = n.10^{-3} .	**фиолетовый**	синий	желто-зеленый	желтый	бесцветный	коричневато-желтый	желтый	бесцветный	крас.-фиол.	розовый-красный
pH = n.10^{-4} .	фиолетовый	**фиолетовый**	желто-зеленый	желтый	бесцветный	коричневато-желтый	желтый	бесцветный	розовый	розовый-красный
pH = n.10^{-5} .	фиолетовый	красный	**коричневый**	желтый	бесцветный	коричневато-желтый	желтый	бесцветный	желтый с красноватым оттенком	розовый-красный
pH = n.10^{-6}	фиолетовый	красный	**красный**	**розовый**	бесцветный	коричневато-желтый	желтый	бесцветный	желтый с красноватым оттенком	розовый-красный
pH = n.10^{-7}	фиолетовый	красный	красный	**красный**	бесцветный	коричневато-желтый	желтый	бесцветный	желтый с красноватым оттенком	розовый-красный
pOH = n.10^{-7}	фиолетовый	красный	красный	красный	**роз.-красн.**	коричневато-желтый	желтый	бесцветный	желтый с красноватым оттенком	розовый-красный
pOH = n.10^{-6}	фиолетовый	красный	красный	красный	**красный**	коричневато-желтый	желтый	бесцветный	желтый с красноватым оттенком	розовый-красный
pOH = n.10^{-5}	фиолетовый	красный	красный	красный	красный	**зеленый**	желтый	бесцветный	желтый с красноватым оттенком	розовый-красный
pOH = n.10^{-4}	фиолетовый	красный	лиловый	красный	красный	**сине-зелен.**	желтый	бесцветный	желтый с красноватым оттенком	розовый-красный
pOH = n.10^{-3}	фиолетовый	красный	фиолетовый	красный	красный	сине-зеленый	**оранжевый**	бесцветный	желтый с красноватым оттенком	розовый-красный
pOH = n.10^{-2}	фиолетовый	красный	фиолетовый	красный	красный	сине-зеленый	красно-оранжевый	**оранжевый**	желтый с красноватым оттенком	розовый-красный
pOH = n.10^{-1}	фиолетовый	красный	фиолетовый	красный	красный	сине-зеленый	красно-оранжевый	**крас.-оранж.**	желтый с красноватым оттенком	розовый-красный
pOH = n . . .	лил.-красн.	красный	фиолетовый	быстро обесцвечив.	быстро обесцвечив.	сине-зеленый	красно-оранжевый	почти бесцветный	**красный**	розовый-красный
pOH = 2n . .	желто-красн.	красный	фиолетовый	быстро обесцвечив.	быстро обесцвечив.	сине-зеленый	красно-оранжевый	почти бесцветный	**красный**	**фиолетовый**

pH — показатель водородных ионов.
pOH — показатель гидроксильных ионов.
n — нормальный раствор.
10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} и т. д. — численное выражение концентрации водородных или гидроксильных ионов.

учета реакции, в других, особенно при определении промежуточных концентраций, приходится прибегать к помощи окрашенной индикатором шкалы эталонов.

Особо важным в практическом отношении будет достигнутое Родэ (K. Rohde) распространение индикаторного метода на микрохимические реакции, которое позволяет определять реакцию даже отдельных клеток под микроскопом. Вне всякого сомнения в данном случае приходится прибегать к индикаторам, проникающим в живую протоплазму, и колориметрическая реакция позволяет установить как качественную, так и количественную сторону реакции. Индикаторами, отвечающими этим требованиям, являются Neutralrot и Methylrot. Индикаторы растворяются в воде. Основной 0,5% раствор перед употреблением разбавляется в 500 раз.

Изменение реакции в связи с изменением концентрации H^+ или OH^- можно видеть из следующей таблички:

Индикатор [1])	Концентрация pH	Изменение цвета индикатора
Methylrot	$n.10^{-2}$ — $n.10^{-3}$	вишнево-красный
	$n.10^{-4}$	оранжево-красный
	$n.10^{-5}$	оранжево-желтый
	$n.10^{-6}$	желтый
Neutralrot	$n.10^{-2}$ — $n.10^{-5}$	малиново-красный
	$n.10^{-6}$	розовый
	$n.10^{-7}$	оранжевый
	$n.10^{-8}$	желтый

и здесь для определения промежуточных концентраций приходится употреблять шкалу окрашенных индикатором эталонов. Сравнивая окраску реакции с окраской эталона, можно точно установить реакцию сока исследуемой клетки или группы клеток. Шкала

[1]) Кроме указанных индикаторов автор (K. Rohde) дает еще третий — Methylorange, но этот последний является менее точным.

При pH $n.10^{-3}$ он дает розово-красную окраску
„ „ $n.10^{-4}$ „ „ красно-оранжевую „
„ „ $n.10^{-5}$ „ „ оранжевую „
„ „ $n.10^{-6}$ „ „ желтую „

эталонов составляется из какого-либо амфотерного электролита, например из смеси $K_2HPO_4 + KH_2PO_4$, в которых pH бывает точно установлен.

Качественную реакцию клеточного сока можно установить применением любой кислой или основной краски, применяемых при гистологических исследованиях. Кислыми красками окрашиваются клетки с кислой реакцией и тем сильнее, чем выше кислотность в клетках, в то время как клетки с нейтральной или основной реакцией этими красками не окрашиваются. Основные краски окрашивают очень интенсивно щелочные клетки, менее интенсивно слабо кислые и очень слабо сильнощелочные клетки.

Наконец при выборе искусственной среды приходится руководствоваться не только особенностями питания организма, но также и целью исследования.

Для культуры плесеней (Aspergillus niger=Sterigmatocystis nigra), по наблюдениям Ролэн (Raulin), наиболее благоприятной средой является следующая среда Ролэна:

Воды	1 500	*граммов*
Тростникового сахару	70	„
Винной кислоты	4	„
Азотнокислого аммония	4	„
Фосфорнокислого аммония	0,6	„
Углекислого калия	0,6	„
Углекислой магнезии	0,4	„
Сернокислого аммония	0,25	„
Сернокислого цинка	0,07	„
Сернокислого железа	0,07	„
Кремнекислого калия	0,07	„

Культура плесеней также хорошо развивается на измененной среде Ролэна следующего состава:

Воды	1 000	*граммов*
Тростникового сахару	50	„
Азотнокислого аммония	3	„
Фосфорнокислого калия (однозамещенного)	1	„
Сернокислого магния	1	„
Железного купороса	следы	

Меньшее распространение имеют среды, предложенные Генненбергом (Henneberg).

1) Дестиллированной воды	1000	г
Виноградного сахару	100	„
Пептона	10	„
Фосфорнокислого аммония (однозамещенного)	2	„
Сернокислого магния	0,5	„
Хлористого кальция	0,1	„
2) Дестиллированной воды	1000	„
Тростникового сахару	100	„
Азотнокислого калия	2	„
Фосфорнокислого калия (однозамещенного)	1	„
Сернокислого магния	0,5	„
Хлористого кальция	0,1	„

Аппель и Волленвебер (Appel u. Wollenweber) рекомендуют для культур грибков-вредителей картофеля среду следующего состава:

Воды	1000	г
Азотнокислого аммония	20	„
Фосфорнокислого калия (двузамещенного)	10	„
Сернокислого магния	5	„
Виноградного сахару	100	„
Агара	10	„

Для культур грибов-разрушителей древесины Тюбеф предлагает следующую среду:

Воды	1000	г
Азотнокислого аммония	10	„
Фосфорнокислого калия	5	„
Сернокислого магния	1	„
Молочной кислоты	2	„

На каждые 50 г этого раствора прибавляют по 10 г фильтровальной бумаги [1]).

Еще лучше культивировать их на их естественном субстрате — на стружках. На один объем опилок берут один объем воды с давлением 2% мальц-экстракта.

С очень большим успехом грибки, особенно почвенные, развиваются на среде следующего состава:

Грицерина	1%
Пептона	1 „
Глюкозы	1 „
Агар-агара	1—1½%

[1]) По мнению Iterson, клетчатка в форме фильтровальной бумаги, пропитанной соответствующими неорганическими солями, является лучшей питательной средой для всех грибков.

Для культуры дрожжевых грибов рекомендуют употреблять среду, предложенную Хансеном, которая содержит в себе:

Воды дестиллированной	1 000 $г^3$
Виноградного сахару или мальтозы	50 „
Пептона	10 „
Фосфорнокислого калия (однозамещенного)	3 „
Сернокислого магния	2—5 „

или же среду, предложенную Хайдуком (Hayduck):

Воды водопроводной	1 000 $г^3$
Тростникового сахару	100 „
Аспарагина	2,5 „
Фосфорнокислого калия (однозамещенного)	1,0 „
Сернокислого магния	0,3 „

Комбинируя ту или иную среду в связи с требованиями условий работы, необходимо помнить, что потребность гриба в зольных элементах полностью покрывается 0,2% сернокислого магния и фосфорнокислого кали. Некоторое затруднение представляет лишь выбор источников углерода и азота в связи с установлением активной и потенциальной реакции среды.

УСЛОВИЯ КУЛЬТУРЫ.

Для успешного развития культуры необходимы не только подбор соответствующих для среды соединений, питательная ценность которой зависит, с одной стороны, от химической природы этих соединений, а с другой — от их динамического состояния и ее соответствия с требованиями грибка, но также и состояние грибка и наличие определенных внешних условий, в которых происходит его развитие.

Избирательная особенность грибков часто так сильно меняется в зависимости от фаз их развития, что пригодная для развития грибка в одном его возрасте среда оказывается не соответствующей для другого возраста. Так, известно (Вент — Went), что часто споры гриба не прорастают в той среде, в которой затем грибок успешно развивается. Влияние питания на грибок столь значительно, что наблюдается под его влиянием изменение всего габитуса, не говоря уже об образовании органов размножения. Так, Клебс в своих исследованиях над условиями размножения грибов и водорослей устанавливает, что при наличии углеводов в изобилии у *Mucor racemosus* образуются толстые главные ветви

с притупленными боковыми ответвлениями, заполненными зернистой буроватой протоплазмой, а при обилии азотистых веществ получаются гифы, тонкие с удлиненными разветвлениями. При питании в сахаристых жидкостях грибница распадается на оидии. Что же касается влияния условий на развитие органов размножения, то, например, Шестакович установил, что грибок *Fumago varians* на одном пептоне развивает лишь конидиеносцы, но конидий не дает; последние начинают развиваться, если к среде прибавить калий, магний и фосфор. Во всяком случае органы размножения начинают развиваться при том условии, если после усиленного питания заставить организм голодать (Клебс, Рациборский и др.), и требуют для своего развития наличия большего количества химических элементов. Приблизительно подобное же наблюдается и в природе. На молодых живых тканях при их поражении грибками появляются конидиальные или пикнидиальные плодоношения; более же сложные образуются на стареющих, засыхающих или даже отмерших тканях — мучнисторосяные, *Plasmopara viticola, Venturia inequalis* и т. д. Насколько химический состав питательной среды может влиять на развитие тех или иных органов размножения, видно из наблюдений упоминавшегося уже Клебса; в чистых растворах гемоглобина грибок *Saprolegnia mixta* дает только оогонии; если же сюда прибавить фосфаты, то грибок начинает развивать также и антеридии.

Насколько отношение организма к питательной среде изменяется в связи с фазами развития, наглядно подтверждается на примере *Pyronema confluens*. По наблюдениям Claussen, этот грибок, усваивающий в вегетативной стадии инулин, предпочитает плодоносить на среде без инулина. Для доказательства этого приготовляют 2 среды следующего состава, одну — с инулином, а другую — без инулина.

	I	II
Фосфорнокислого кали (однозамещенного)	0,05%	0,05%
Азотнокислого аммония	0,05 „	0,05 „
Сернокислого магния	0,02 „	0,02 „
Фосфорнокислого железа	0,001 „	0,001 „
Агар-агара	2 „	2 „
Воды	95 „	95 „
Инулина	2 „	—

Средой с инулином наполняют до краев небольшой низенький кристаллизатор, затем его вставляют в чашку Петри и простран-

ство между кристаллизатором и стенками чашки Петри заливают в уровень с кристаллизатором средой без инулина и высевают *Pyronema confluens* в кристаллизатор на среду с инулином. Скоро можно заметить развитие плодоношений, но все они образуются на среде без инулина.

Соответствующее влияние на развитие грибка оказывают также и внешние условия — влажность, температура, свет.

В отношении условий (факторов), влияющих так или иначе на развитие грибка, следует вспомнить, что влияние каждого из них измеряется minimum'ом, optimum'ом и maximum'ом, а с другой стороны, что эти количества для каждого фактора не являются абсолютными, но колеблются и порой значительно изменяются в зависимости от наличия и состояния других факторов. Так, например, по Тиле при питании грибницы *Penicillium glaucum* сахаром maximum температуры для его развития будет 31° С, а при питании глицерином или муравьиной кислотой maximum повышается до 36° С. Влияние рассматриваемых факторов сказывается прежде всего на прорастании гриба, затем на его развитии и на формативных эффектах вообще и на образовании продуктов размножения в частности.

Для сравнительного изучения влияния среды и внешних условий на развитие грибков прибегают к определению времени, в течение которого гриб образует сплошной крепкий мицелий, и к учету максимального сухого веса грибка, полученного в течение одного и того же времени, в определенном объеме среды и при прочих равных условиях за исключением одного, влияние которого исследуют и которое, следовательно, изменяется.

Значение влажности для развития грибов известно и находит подтверждение в повседневных наблюдениях — плесени появляются лишь при условии влажности атмосферы, и появление их служит признаком сырости помещения. При просушивании последних гриб пропадает. В связи с потребностью большинства грибов в достаточной влажности широкое развитие грибных заболеваний наблюдается в особо сырые, дождливые годы. Менее выносливыми в отношении сухости являются прежде всего вегетативные органы — мицелий, который, как известно, содержит в себе до 90% и даже выше воды, тогда как покоящиеся споры и покоящийся мицелий могут переносить продолжительное пребывание в сухой среде, не теряя своей способности к прорастанию.

Значительное влияние на развитие грибов оказывает также

температура. Хотя большинство грибов живет при умеренных температурах, но некоторые из них могут развиваться как при очень низких (1,5—2° С), так и при высоких до (40—50° и даже 60°); в среднем же оптимальная температура колеблется от 20° до 37—40° С, что характеризует приводимая табличка:

	Minimum	Optimum	Maximum	Автор
Saccharomyces	0—6°	28—34°	34—40°	Педерсон (Pederson)
Penicillium glaucum	1,5„	25—27„	31—36„	Тиле Thiele
Mucor racemosus	4„	20—25„	33„	Клебс
Eurotium (Aspergillus) repens	7„	25—30„	38„	Клебс
Aspergillus niger	7—10„	33—37„	40—43„	Тиле
Mucor pusillus	20„	40—46„	56„	Нок (Noack)
Thermoascus aurantiacus . .	35„	40—46„	55„	Нок (Noack)
Anixia Spadicea	27„	45—46„	58„	Нок (Noack)
Thermoactinomyces vulgaris .	48„	57„	68„	Циклинская (Tsiklinsky)
Mortierella van Tieghemi . .	—	24—25„	—	Бахман (Bachmann).
Fusicladium dendriticum . .	6„	20—22„	33„	Ячевский.
Monilia fructigena	0„	24—28„	37„	Ячевский.
Sphaerotheca humuli	—	20—35„	—	Бондарцев.
Sphaerotheca pannosa . . .	10„	28—30„	38—40„	Ячевский.

Периодическая смена температур ускоряет прорастание спор, развивающихся после зимнего покоя. Наилучшей средней температурой для содержания грибов в искусственных условиях считается 25° С.

Свет не имеет особого значения для культур, в особенности же для прорастания спор. Но все же он не остается без влияния на организм и особенно на его плодоношение. Исключительную чувствительность (положительную) отмечают у мукоровых и у спорыньи. Их плодоношения (у мукоровых спорангиальное, а у

Claviceps—сумчатое) обладают ясно выраженным положительным фототропизмом. Но сильное освещение, особенно лучами с короткими волнами, задерживает рост. Периодичность освещения благоприятствует развитию плодоношений. В лабораторных условиях лучше всего держать культуру в шкафу (рис. 24).

Значительное влияние на развитие организма оказывает также концентрация среды, так, она оказывает то или иное влияние на изменение силы осмотического давления. Значение осмотического давления на поступление в организм продуктов питания очень значительно, почему на концентрацию среды должно быть обращено соответствующее внимание. Правда, грибки, особенно некоторые, обладают большой приспособляемостью к различным концентрациям, хотя, конечно, различные концентрации не остаются без влияния на самый организм, что выражается прежде всего изменением некоторых морфологических особенностей. Клетки мицелия с увеличением или уменьшением концентрации становятся крупнее или мельче, стенки толще или тоньше; рост идет медленнее; образование органов размножения или возбуждается или задерживается; наконец изменения касаются и химических процессов. Оптимальные концентрации для культур не указаны. Можно думать, что концентрация в 0,01% является наиболее подходящей.

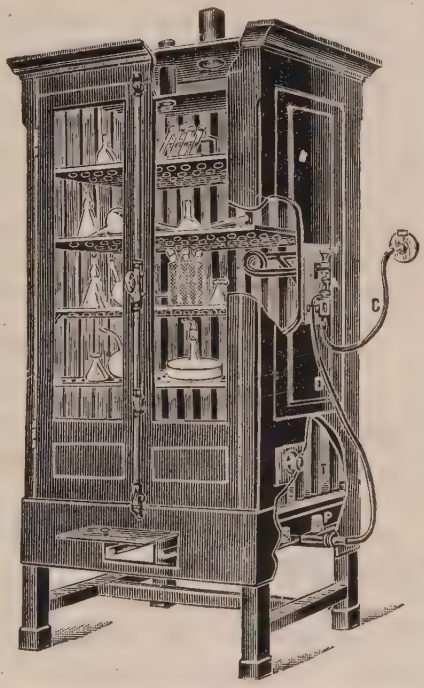


Рис. 24. Термостат Ру для воспитывания культур. Теплый воздух от горелок (помещаются внизу) проходит по медным трубам вдоль термостата и выходит через верхнее отверстие. На правой стенке термостата виднеется терморегулятор, автоматически поддерживающий температуру термостата на нужной высоте

Наконец на развитие культуры оказывает влияние и форма субстрата (среды). Как естественные, так искусственные среды употребляются или в твердом (плотном) состоянии или в форме растворов и вытяжек. Плотные среды, особенно рыхлые, являются наиболее

благоприятными для развития грибков. Некоторые из них неспособны нормально развиваться при погружении их в жидкую среду и начинают давать вместо мицелия почкующиеся оидии. Чтобы изменить форму питательной среды (растворов), к ним добавляют какие-нибудь индифферентные тела — песок, гипсовые пластинки, глиняные пористые пластинки, губку и т. д. Но такие среды неудобны для наблюдателя за развивающимся организмом, почему к ним прибавляют лучше всего агар или желатину, как на то уже указывалось раньше.

Однако в некоторых случаях, при изучении физиологии питания и обмена вещества, употребление жидких сред является необходимым условием. Лишь в некоторых случаях, при качественном учете потребляемых и выделяемых организмом продуктов, их можно установить также на искусственных твердых (плотных) субстратах, как то доказал Бейеринк.

МИКРОБИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ.

Микробиохимический анализ методом ауксанограммы, предложенный Бейеринком, позволяет учитывать пригодность различных соединений для питания организма, определить выделяемые организмом энзимы и продукты обмена и разложения питательных веществ и выявления ядовитого действия различных жидкостей.

Исследование методом ауксанограммы состоит в том, что на плотную среду, на которой культивируется микроорганизм, наносят небольшое количество определенного вещества, которое, задерживая или возбуждая рост организма, так сказать, графически выявляет (отмечает) зависимость от него данного организма.

Насколько микроорганизмы являются чувствительной реакцией на химические вещества, усматривается из указанного выше примера отношения микроорганизмов к стереохимическим особенностям вещества, из принятого в лабораторной практике способа устанавливать наличие минимальных количеств кислорода при помощи светящихся бактерий или, наконец, обнаружить присутствие мышьяка культурой *Penicillium brevicaule*, под влиянием которого мышьяк дает соединение Diathylarsin, который обнаруживают благодаря его характерному запаху чеснока.

Чтобы обнаружить значение для питания дрожжей, фосфора, аспарагина и глюкозы методом ауксанограммы, наносят на желатиновую пластинку (10% раствор) отдельно каплю фосфорно-

кислого калия и раствор смеси аспарагина и глюкозы. Вещества диффундируют в желатину и скоро диффузиционные поля двух капель соприкасаются. Развитие посеянного грибка наблюдается лишь в тех местах, где эти поля пересекаются, и этим подтверждается, что смесь аспарагина и глюкозы без прибавления фосфатов не пригодна для питания грибка.

Особенно этот метод применим для определения выделяемых микроорганизмом ферментов. Для определения диастаза прибегают к следующему приему: на крахмальном агаре высеивают гриб и, когда он достаточно развился, среду поливают раствором jod-jodkali. Вся свободная от гриба пластинка окрасится в темносиний цвет, и действие диастаза будет обнаружено благодаря наличию в среде бесцветного пятна, которое будет следствием исчезновения в этих местах крахмала. Декстрин на границе между бесцветным пятном и темносиним полем окрасится в желто-красный цвет. Наличие протеолитических энзим обнаруживается разжижением желатины. Тем же методом можно обнаружить как окислительные процессы, так и явления редукции. В том и другом случае прибегают к помощи цветных реакций — например наличие альдегидов обнаруживают фуксином, а явление редукции устанавливают Methylblau или индиго; это также легко определяют в щелочной среде при помощи селениевой или теллуриевой кислот, которые употребляются в форме их щелочных солей и которые при редукции дают черную, а иногда красную окраску, а в кислых средах — при помощи молибденовой или вольфрамовой кислот.

Для установления ядовитого действия на организм того или иного вещества организм культивируют на среде, благоприятной для его развития, а затем на средину пластинки вносят каплю раствора испытываемого вещества — например солей меди или же кристалл сулемы. Вскоре грибок покрывает своим мицелием всю пластинку, но его рост останавливается в диффузиционном поле, и лишь на границе диффузиционного поля возможно стимулирующее действие яда, вызывающее более пышное развитие мицелия.

Таким образом при помощи этого метода возможно установить наиболее благоприятную для развития изучаемого организма среду, испытать его отношение к различным веществам и выявить те превращения, на которые грибок способен под влиянием этих веществ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ КУЛЬТУРЫ.

Определение результатов культуры обыкновенно производится в зависимости от целей исследования или учетом веса гриба, развившегося на определенном количестве (объеме) питательной среды (Экман), или выяснением экономического коэффициента, который устанавливается между потреблением питательного вещества и образованием за его счет организмом сухого вещества (Пфеффер и Кунстманн), при чем на основании теоретических подсчетов и сравнения их с фактическим образованием мицелия выясняется, какая часть питательного вещества будет израсходована на динамические процессы, связанные с приведением вещества в усвояемое состояние и с его усвоением. Так, высчитано, что из 1 *г* сахарозы могло бы образоваться до 2 *г* сухого вещества грибка, между тем при его культуре получается лишь 0,4—0,5 *г* и даже меньше. Т.-е. в то время, как теоретическая величина коэффициента должна равняться 0,5, на самом деле он всегда выше единицы и порой может доходить даже до 6,1. Таким образом его величина является непостоянной и зависит от различных условий, повышаясь с возрастом грибка, при повышении температуры и т. д.

Практически определение делается так: развившийся на растворе гриб выбрасывают на предварительно взвешенный фильтр, мицелий промывают определенным количеством воды, высушивают при 80—100° С и взвешивают вместе с фильтром. Разница между общим весом и весом фильтра и будет представлять сухой вес гриба.

Учет израсходованного питательного вещества и сухой вес гриба позволят установить экономический коэффициент.

ПРИЕМЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР.

Основным требованием чистых культур является чистота и однородность состава культуры.

Для получения чистых культур можно исходить или из отдельных спор или из мицелия. Теоретически действительно чистая культура получается из одной жизнедеятельной клетки. Практически же следует помнить, что в мицелии лишь часть клеток сохраняет свою жизнедеятельность, значительная же часть — отмирает.

Для выделения грибка его берут из естественных мест его обитания, по возможности менее загрязненный другими организ-

мами, и пользуются его молодыми гифами или молодыми плодоношениями, так как они являются более жизнедеятельными и имеется больше шансов на развитие.

В случае если имеющийся гриб будет сильно загрязнен и стар, лучше всего попытаться получить предварительную культуру грибка. Для этого гриб переносят в условия, наиболее благоприятные для его развития, и по возможности пытаются освободить от засоряющих его организмов. Чтобы препятствовать развитию бактерий, предварительную культуру гриба разводят на кислой среде, неблагоприятной для их развития. При наличии биологических особенностей изучаемого гриба соответственно изменяют среду или приемы и тем облегчают развитие грибка.

Ввиду того, что наличие соответствующего исходного материала является важным условием успеха при выделении грибков в чистую культуру, на сбор материала и его хранение следует обратить самое серьезное внимание. Очень часто грибок (его плодоношения) должен предварительно дозреть или во всяком случае бывает способен прорастать лишь только после длительного периода покоя (обыкновенно в течение всей зимы), и успешность работ с грибком обусловливается сохранением жизнедеятельности организма в течение зимы. Хранение материала в условиях лаборатории часто обусловливает его гибель, почему лучше всего оставить гриб на зиму на воле, подвергая его воздействию всех метеорологических условий. Неудобство этого способа состоит в том, что ткани, содержащие гриб и его плодоношения выветриваются, и последние теряются. Чтобы избежать указанного, рекомендуется собранный материал подсушивать и помещать для хранения в небольшие цветочные горшки, закрывая их марлей или другой редкой тканью. Другой способ состоит в том, что материал с грибами помещают между двумя рамами, обтянутыми марлей; одним концом раму опирают в землю, а другой конец поддерживается подпоркой. Или наконец собранный материал помещают в мешочки и вывешивают на всю зиму на волю.

Для работ по выделению грибка в чистую культуру отбирают по возможности чистый материал и в зависимости от состояния организма так или иначе варьируют приемы.

Если грибок находится в стадии покоя в форме склероция или ризоморфы, то чистую культуру возможно получить из них. С этой целью склероции изолируют, стараются очистить их от возможного засорения посторонними организмами повторными промы-

ваниями в стерильной воде, а затем помещают его в стерильную чашку Петри с питательной средой. В других случаях склероций после его наружной очистки предварительно асептично разрезают на отдельные части и стараются получить небольшую часть внутренней ткани. В том и другом случае часто развивается чистый или почти чистый мицелий. Путем повторных перевивок будет возможно очистить его от возможного засорения другим организмом. В других случаях склероций дает плодоношение, из которого и пытаются получить споры во время их созревания, вынимая их из их вместилища.

Рис. 25. Препаровальные иглы.

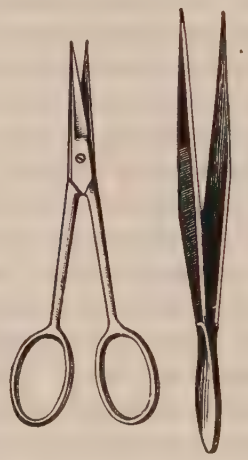


Рис. 26. Пинцет и ножницы для микроскопических работ.

Для успешности работы необходимо употреблять чистые стерильные инструменты. Таковыми являются обыкновенно препаровальные иголки (в форме иглы или копьеца), пинцеты, ножницы и скальпели (рис. 25 и 26). Для работ же с чистыми культурами пользуются платиновой иглой или ушком в зависимости от условий работы (рис. 27). Платиновая игла представляет собой небольшой кусок платиновой проволоки, которая одним концом вставляется в ручку или же впаивается в стеклянную палочку. Преимущество платиновой иглы заключается в том, что перед пользованием ее легко обеспложить, прокалив ее на пламени (стальные иглы от этого сильно портятся); прокаливать (обеспложивать) ее приходится перед каждым употреблением.

Рис. 27. Платиновая игла и ушко.

Когда гриб имеется в форме плодоношений, то в зависимости от условий развития спор пользуются разными способами. Если споры развиваются поверхностно и открыто, их стараются осторожно счистить скальпелем или, лучше, жесткой кисточкой, или на стеклянную пластинку или в воду, например на часовое стекло. В первом случае, просмотрев споры под микроскопом при

слабом увеличении и установив их чистоту, пытаются подхватить отдельные споры смоченным концом стерильной иголки и перенести их в питательную среду. Во втором случае для выделения отдельных спор прибегают к помощи метода разводок. Исторически этим методом пользовался еще Пастер. Принцип его состоит в том, что путем механического разделения стараются получить изолированную спору (зародыш). С этой целью в пробирку с водой вносят некоторое количество (по возможности небольшое) спор и содержимое пробирки тщательно взбалтывают, чтобы споры распределились более или менее равномерно по воде. Затем берут одну каплю воды и под микроскопом подсчитывают споры, находящиеся в захваченной капле. Выводя арифметическое среднее, устанавливают, какое количество воды следует прибавить к содержащейся в пробирке, чтобы споры распределились в ней так, что каждая капля воды будет содержать одну спору. Затем в заготовленную среду переносят одну каплю воды, полагая, что в среду будет перенесена одна спора и что, следовательно, развившаяся в среде культура будет чистой. Неудобство этого способа состоит в том, что исследователь лишен возможности проверить, какое количество спор было перенесено в питательную среду и является ли культура действительно чистой.

После того как Кохом было введено в микробиологическую технику употребление плотных, прозрачных сред, степень успешности работ значительно повысилась, так как появилась возможность проверить результаты посева и установить наблюдение за развитием выделенной споры под микроскопом. Кроме того были усовершенствованы и самые приемы изолирования.

Исходным материалом и здесь служат споры гриба, размешанные в пробирке с водой. Также, проверяя под микроскопом и разбавляя содержимое в пробирке водой, получают на каждую каплю приблизительно одну спору. Затем берут чашку Петри со стерильной плотной средой, вливают сюда несколько капель воды, стремясь к тому, чтобы вода возможно равномерно распределилась по поверхности среды. Споры, находившиеся в воде, будут более или менее изолированы друг от друга, и каждая даст свое собственное потомство — колонию. Как только вода испарится или впитается в среду, чашку Петри рассматривают под микроскопом, определяют положение спор и отмечают одиночные, наиболее удаленные друг от друга. После того как споры дадут небольшие колонии, нужные из них снимают и переносят на новую среду.

В большинстве случаев из ряда чашек можно получить некоторые, содержащие действительно чистую культуру искомого грибка.

Чтобы повысить успешность получения чистой культуры, посев из разводок производят в чашках Петри на разжиженную, но уже охлажденную до степени застывания плотную среду (рис. 28). Внесенные сюда споры размешивают со средой и дают ей застыть. Под микроскопом исследуют положение спор и по развитии колоний их пересеивают. Более удобный и надежный способ состоит в том, что к любой жидкой питательной среде прибавляют 3—5% желатины. Часть спор берут в пробирку с такой средой и взбалтывают, пока споры не разместятся равномерно по всей среде. Тогда под микроскопом подсчитывают количество спор, находящихся в каждой капле, и затем в другую пробирку, содержащую определенное количество такой же среды, переносят столько капель среды со спорами, чтобы во второй пробирке на каждую каплю пришлось по одной споре. Содержимое второй пробирки также тщательно взбалтывают и переносят 6—10 капель среды в разных местах на внутреннюю поверхность крышки чашки Петри, а на дно ее наливают немного стерильной воды. Под микроскопом проверяют наличие в среде спор, отмечают наиболее подходящие и следят за их развитием. Развившиеся колонии перевивают.

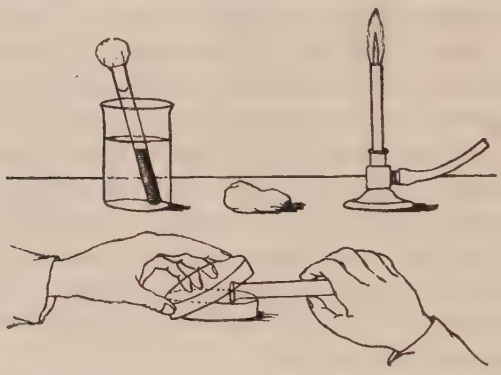


Рис. 28. Разжиженную в горячей воде плотную среду переливают в предварительно простерилизованную чашку Петри перед тем, как намереваются сделать на ней посев.

Еще лучше переносить отдельные капли слабо желатинизованной среды на чистые покровные стекла. После рассмотрения их под микроскопом, установив, что в капле имеется лишь одна и нужная нам спора, стеклышко со спорой бросают в соответствующий сосуд с питательной средой.

Для большей убедительности посев спор грибка можно производить на покровные стекла и наблюдать за их развитием в так называемых влажных камерах. Изготовляют влажные камеры

различными способами. По ван Тигему (van Tieghem), на предметном стекле укрепляют при помощи канадского бальзама стеклянное с отшлифованными краями кольцо, высотою 1 *см* и 15—17 *мм* в диаметре [1]). На дно камеры вносят одну-две капли воды, а на внутреннюю сторону покровного стекла, прикрепляемого вазелином на верхнем конце кольца, наносят каплю желатинизованной среды со спорой в ней. По Клебану, на предметное стекло обыкновенного формата кладется Giessner'овское стекло в 2—3 *мм* толщиной с круглым отверстием посредине, диаметром в 15 *мм*, а на него уже накладывается покровное стекло с нанесенной на него средой со спорой. Между покровным и предметным стеклом пускается капля стерильной воды, которая склеивает стекла и поддерживает в препарате влажную атмосферу. Заготовляют обыкновенно многочисленные камеры. После посева и просмотра камер под микроскопом содержащие нужные споры помещают на подставку и накрывают стеклянным колоколом.

Преимущество этого способа состоит в том, что, с одной стороны, при нем возможно проверить посев, а с другой — он позволяет вести наблюдение над развитием грибка, а иногда даже и образованием плодоношений. В соответствующий момент развивающуюся колонию можно или целиком перенести в большой сосуд с питательной средой или взять из камеры для прививки часть имеющегося там мицелия или просто споры. Культура во влажной камере может сохраняться до 2—3 недель.

При употреблении чистого спорового материала, полученного с изолированных и по возможности асептических плодовых тел, посев во влажные камеры можно произвести проще. Споры получают в воде и, захватив иглой одну из них в капле воды, переносят в среду на покровном стеклышке (см. выше). Для этого иглой со спорами проводят по застывшей желатине. По произведенному повреждению впоследствии легче бывает установить место посева.

Удобство этого метода заключается еще в том, что здесь легко бывает установить засорение посевного материала посторонними спорами, установить, чьи это будут споры, и, наконец, в некоторых случаях будет возможно путем пересева получить чистую культуру из засоренного посева. Для этого застывшую

[1]) Канадский бальзам представляет большие неудобства, так как очень трудно отчищается и от кольца и от предметного стекла. Удобнее пользоваться вазелином или чистым или, еще лучше, с примесью 5—8% воска или параффина. Слой вазелина должен быть равной толщины. Вазелин легко отмывается в бензине.

желатиновую каплю разрезают на небольшие частицы, стараясь изолировать одиночные нужные споры и затем их перенести в новую влажную камеру.

При пользовании спорами, развивающимися в закрытых плодовместилищах, предпочтительно изолировать эти вместилища и получить споры из них асептическим путем — раздавливанием и извлечением из них спор или всего гимениального слоя. При пользовании конидиями, развивающимися на отдельных конидиеносцах и к тому же слабо прикрепленных, удобнее всего снимать их при помощи платиновой иглы и переносить прямо во влажные камеры и т. д.

Указанные примеры показывают, насколько варьируют приемы получения посевного материала в зависимости от того, каким органом пользуются для получения чистой культуры, а также и от формы плодоношения грибка.

Особенно интересный прием применяется при пользовании спорами, непроизвольно выбрасывающимися из плодовых тел. Листья, пораженные нужным грибком со зрелыми плодовыми телами (следят, чтобы на листе были плодоношения одного только гриба), размачивают в воде, тщательно и повторно промывают в стерильной воде и быстро высушивают фильтровальной бумагой. Затем лист кладут на предметное стекло с отверстием посредине, с тем, чтобы плодовые тела приходились своими выводковыми порами как раз над отверстием, и помещают это стекло над покровным стеклом с желатинизованной питательной средой в незначительном расстоянии от него. Для предохранения от засорения все это накрывают колоколом. Споры, совершенно чистые, выбрасываясь, попадают в питательную среду. Предметные стекла снимают, проверяют под микроскопом и помещают во влажную камеру.

Для получения чистых культур шляпочных грибов Мюнх дает следующий способ. К нижней стороне куска проволочной сетки прикрепляют кусок сукна, в средине которого имеется небольшое отверстие в $1\frac{1}{2}$—2 *см*. Шляпку гриба (срезав его ножку) кладут на сетку плодущей стороной вниз, покрывают свободными концами сукна и помещают над открытой колбой Эрленмейера так, чтобы отверстие в сукне совпадало с отверстием колбы. Освобождающиеся из плодущего слоя споры через отверстие в сукне попадают в питательную среду совершенно чистыми.

Чтобы иметь возможность следить за развитием гриба, на-ряду с посевом в колбы споры можно посеять и во влажные камеры.

ОГЛАВЛЕНИЕ.

Стр.

Г. Клебан. **Методы искусственного заражения грибами.**

Вступление 5

А. Общие методы 7

В. Специальные методы заражения отдельными группами грибов 18

I. Бактерии, как возбудители болезней растений . . . . . —

II. Myxomycetae (Plasmodiophora) 22

III. Настоящие грибы (Mycomycetes) . . . . . —

A. Phycomycetae . . . . . —

1. *Chytridineae* . . . . . —

a. Woroninaceae, Olpidiaceae, Ancylisteae, Rhizidiaceae, Hyphochytriaceae, Cladochytriaceae 23

b. Synchytriaceae 25

2. *Oomycetae* 27

a. Saprolegniaceae 28

b. Peronosporaceae Pythium, Cystopus (Albugo), Phytophthora, Peronospora 29

3. *Zygomycetae* 44

a. Mucorineae . . . . . —

b. Entomophthoreae 45

B. Ascomycetae 47

1. *Protascinae* . . . . . —

2. *Plectascinae* 49

3. *Perisporinae* 51

a. Erysiphaceae . . . . . —

b. Perisporiacea, Microthyriaceae 57

4. *Pyrenomycetae* . . . . . —

a. Hypocreaceae, Nectria. Calonectria, Hypomyces, Melanospora, Gibberella. Polistigma, Epichloë. Claviceps. Cordyceps . . . . —

b. Sphaeriaceae,—Melanommeae. Trichosphaeriaceae. Ceratostomaceae. Cucurbitariaceae. Mycosphaerellaceae, Stigmatea, Mycosphaerella, Sphaerulina, Guignardia, Glomerella, Neozimmermannia.—Pleosporaceae, Physalospora, Venturia, Didymella, Leptosphaeria, Ophiobolus, Pleospora (Pyrenora). Massariaceae, Charrinia. Gnomoniaceae, Gnomonia, Mamiania. Clypeosphaeriaceae. Valsaceae. Melanconidaceae. Melogrammataceae 64

Стр.

c. Dothidiaceae 81
5. *Hysterineae* 82
6. *Discomycetae* . . . . . —
a. Phacidiaceae . . . . . —
b. Pezizineae—Sclerotinia, Dasyscypha; Pseudopeziza, Entomopeziza, Fabraca, Cenangium, Dermatea 83
7. *Exoasceae* 92
C. Basidiomycetes 97
1. *Ustilagineae* . . . . . —
a. Головня злаков. Методы. Заражение проростков у злаков. Головня кукурузы. Заражение цветка 98
b. Другие головневые грибы 110
2. *Uredineae* 117
Общее понятие о ржавчинных. Подопытные растения. Опыты с перезимовывающими телейтоспорами. Опыты с незимующими телейтоспорами. Опыты с эцидиоспорами. Опыты с уредоспорами. Перемена хозяина. Приспособляемость (специализация). Uromyces и Puccinia. Gymnosporangium. Phragmydium, Xenodochus, Triphragmidium. Kuehneola albida. Endophyllum. Chrysomyxa. Chronartium. Peridermium pini. Coleosporium. Ochropsora sorbi. Melampsora. Melampsoridium. Melampsorella. Pucciniastrum. Thecopsora. Calyptospora. Uredinopsis, Milesina, Hyalopsora . . . . . —
3. *Hymenomycetae* 156
4. *Exobasideae* 158
D. Fungi imperfecti . . . . . —
1. *Sphaerioideae* 159
2. *Melanconieae* 160
3. *Hyphomyceteae* . . . . . —
4. *Стерильные грибницы* 163
5. *Чернь* 165

А. Сигрианский. **Культура грибов.**

Питание грибов 169
Чистые культуры и их значение 176
Посуда 177
Стерилизация и приемы стерилизации 181
Питательные среды 188
Условия культуры 209
Микробиохимический анализ 214
Определение результатов культуры 216
Приемы для получения чистых культур . . . . . —